

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار – مختار

ANNABA عنابة



FACULTÉ DES SCIENCES DÉPARTEMENT DE  
BIOLOGIE

LABORATOIRE DE Neuro-endocrinologie Appliquée

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat

Domaine : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : COMPORTEMENT ET ADAPTATION

### Intitulé

« Etude des aspects pharmaco-toxicologiques et comportementaux de la plante *Peganum harmala* chez des rats *Wistar* traité à la Camomille »

Presentée par : Mr. HAMIDA Youcef Islam

- Directrice de thèse : M<sup>me</sup> CHOUBA Ibtissem (MCA, Université - Annaba)
- Co-directrice de thèse : M<sup>me</sup> HABBACHI Wafa (Professeur, Université - Annaba)

Devant un jury composé de :

- |                         |              |                       |
|-------------------------|--------------|-----------------------|
| - Pr. BAIRI Abdelmadjid | Président    | Université - Annaba   |
| - Pr. SAMAI Ibtissem    | Examinatrice | Université - Annaba   |
| - Pr. GRARA Nedjoud     | Examinatrice | Université - Guelma   |
| - Dr. RIZI Hadia        | Examinatrice | Université - El-Taref |

# **REMERCIEMENTS**

الحمد لله

Cette dissertation est le résultat d'un riche mélange de savoirs, d'expériences et de pensées partagées avec de nombreuses personnes, à différents endroits et moments. Je souhaite que chacun puisse s'y reconnaître d'une certaine manière et que ceux qui m'ont assisté dans l'élaboration de ce travail y trouvent autant de satisfaction à sa lecture que j'en ai éprouvé à sa rédaction.

Je souhaite exprimer ma gratitude envers les individus suivants :

Mes remerciements s'étendent aussi à ma directrice de thèse, **Dr CHOUBA Ibtissem**, en qui j'ai trouvé un guide précieux. Votre accompagnement, votre confiance et votre soutien ont été essentiels, sans oublier vos remarquables qualités humaines.

Je suis profondément reconnaissant envers ma co-directrice de thèse, **Pr HEBBECHI Wafa**, pour m'avoir offert l'opportunité d'entreprendre ce projet. Vos orientations, tant sur le plan pratique que technique et scientifique, ont été cruciales tout au long de mon parcours. Vos compétences scientifiques et qualités personnelles ont été sources d'inspiration et de motivation après nos discussions, me permettant d'avancer dans mon travail avec efficacité.

Ma reconnaissance vous est éternellement acquise, merci pour tout.

Ce projet a vu le jour au sein du Laboratoire de Neuro Endocrinologie Appliquée (LNEA) de l'Université Badji Mokhtar, Annaba, sous la direction bienveillante de Monsieur le **Pr BAIRI Abdelmadjid**.

Je tiens à remercier les membres du jury pour leur participation essentielle :

Un grand merci à Monsieur **BAIRI Abdelmajid**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, pour avoir présidé mon jury de soutenance.

Mes remerciements vont également à Mme **SAMAI Ibtissem**, Professeure à l'Université d'Annaba, Mme **GRARA Nedjoud**, Professeure à l'Université de Guelma et Mme **RIZI Hadia**, Docteur à l'Université d'El-Taref, pour avoir accepté de juger mon travail et d'honorer le jury de thèse en tant qu'examinatrices.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude à Monsieur le Professeur **ABDELNOUR Cherif**, Directeur du Laboratoire d'Ecophysiologie Animale, pour m'avoir permis de conduire une portion significative de mes recherches dans son laboratoire.

Un remerciement spécial à tous les membres du personnel administratif et les étudiants du département de biologie pour leur contribution précieuse à mon projet. Merci à vous tous. Enfin, ma reconnaissance s'étend à toutes les personnes qui m'ont soutenu, directement ou indirectement, dans cette aventure.

Ce parcours est dédié à ma mère **BENTALEB Fatima**, avec tout mon amour et ma gratitude. Ta présence me manque profondément lors de ces instants importants, mais je sens que tu ne m'as jamais réellement laissé et que tu resteras à jamais gravée dans mon cœur et mes pensées.

Je souhaite aussi exprimer ma profonde reconnaissance à mon père **HAMIDA Saleh**, à mes sœurs, **Sérine** et **Amina**, à mon frère **Amine**, et à l'ensemble de notre famille pour leur soutien inconditionnel.

*Merci*



# RÉSUMÉS

## Résumé

Cette étude porte sur les effets de l'harmine (H), un alcaloïde dérivé de la plante *Peganum harmala* connu pour ses effets nocifs sur le foie, les reins et le cerveau des rats, ainsi que sur le stress oxydatif. L'étude examine les avantages préventifs de l'utilisation de l'extrait éthanolique de *Matricaria chamomilla* (EEC). Six groupes (n = 8) de rats ont été créés. Le groupe 1 (contrôle) ; le groupe 2 a reçu une seule injection de H (40 mg/kg) ; le groupe 3 a reçu de l'EEC (200 mg/kg) ; le groupe 4 a reçu de l'EEC (500 mg/kg) ; les groupes 5 et 6 ont reçu une injection de H (40 mg/kg) avec l'administration de l'EEC (200 mg/kg) ou (500 mg/kg) pendant 21 jours ; tous les groupes ont été soumis à un stress par le biais d'un test de nage forcée.

Les résultats de l'étude ont révélé que l'exposition à l'Harmine (H) a induit un comportement anxieux chez les rats, accompagné d'une prise de poids notable ainsi que d'une augmentation de la taille du foie et des reins. De plus, cette exposition a provoqué une légère hausse des niveaux sériques de cholestérol total, et une augmentation significative des niveaux de malondialdéhyde (MDA), indiquant un stress oxydatif accru. On a également observé une diminution marquée de la capacité antioxydante totale dans le foie, les reins et le cerveau, illustrée par la réduction des niveaux d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion S-transférase (GST), ainsi que de la concentration en glutathion réduit (GSH). En outre, une inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) a été notée.

Parallèlement, le traitement par l'extrait éthanolique de Camomille (EEC) a démontré un effet protecteur significatif sur le poids des organes, atténuant efficacement les effets délétères provoqués par l'Harmine. L'analyse microscopique des tissus hépatiques et rénaux a été effectuée pour évaluer ces paramètres. Il est important de noter que les observations n'ont révélé aucune altération majeure dans la morphologie ou la structure des organes à la suite des traitements avec l'Harmine et l'EEC. Cette résilience suggère que l'extrait de *Matricaria chamomilla* (MC) possède une activité anti-radicalaire notable, offrant une protection contre les effets oxydatifs induits par l'Harmine sur le foie, les reins et le cerveau et révèle ainsi son potentiel en tant qu'agent anxiolytique et antioxydant.

**Mots-clés** : Harmine, *Matricaria chamomilla*, Extrait éthanolique, Neurotoxicité, Comportement, Anxiété, Paramètres biochimiques, Stress oxydatif, Rat *Wistar*.

## **Abstract**

This study focuses on the effects of harmine (H), an alkaloid derived from the *plant Peganum harmala* known for its harmful effects on rat liver, kidney, and brain, as well as oxidative stress. The study examines the preventive benefits of using the ethanolic extract of *Matricaria chamomilla* (EEC). Six groups (n = 8) of rats were created. Group 1 (control); group 2 received a single injection of H (40 mg/kg); group 3 received EEC (200 mg/kg); group 4 received EEC (500 mg/kg); groups 5 and 6 received H (40 mg/kg) and EEC (200 mg/kg) or (500 mg/kg) for 21 days; all groups were subjected to stress via a forced swim test.

The results of the study revealed that exposure to Harmine (H) induced anxious behavior in the rats, accompanied by significant weight gain and increased liver and kidney size. In addition, this exposure caused a slight rise in serum total cholesterol levels, and a significant increase in malondialdehyde (MDA) levels, indicating increased oxidative stress. There was also a marked decrease in total antioxidant capacity in liver, kidney, and brain, illustrated by reduced levels of antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase (GPx) and glutathione S-transferase (GST), as well as reduced glutathione (GSH) concentration. In addition, acetylcholinesterase (AChE) activity was inhibited.

At the same time, treatment with Chamomilla ethanolic extract (EEC) demonstrated a significant protective effect on organ weight, effectively attenuating the deleterious effects caused by Harmine. Microscopic analysis of liver and kidney tissue was carried out to assess these parameters. Importantly, observations revealed no major alterations in organ morphology or structure following treatment with Harmine and EEC. This resilience suggests that *Matricaria chamomilla* (MC) extract possesses notable anti-free radical activity, offering protection against Harmine-induced oxidative effects on the liver, kidney, and brain, and thus reveals its potential as an anxiolytic and antioxidant agent.

**Key words:** Harmine, *Matricaria chamomilla*, Ethanolic extract, Neurotoxicity, Behavior, Anxiety, Biochemical parameters, Oxidative stress, *Wistar* rat.

## المخلص

تركز هذه الدراسة على تأثيرات الهارمين (H) ، وهو ألكالويد مشتق من نبات الحرمل المعروف بآثاره الضارة على دماغ، كبد و كلى الفئران، وكذلك على الإجهاد التأكسدي. فحصت الدراسة الفوائد الوقائية لاستخدام المستخلص الإيثانولي لنبات البابونج (EEC). تم إنشاء ست مجموعات (ن = 8) من الفئران. المجموعة الأولى (المجموعة الضابطة)، والمجموعة الثانية تلقت حقنة واحدة من الهارمين (40 مجم/كجم)، والمجموعة الثالثة تلقت المستخلص الإيثانولي لنبات البابونج (200 مجم/كجم)، والمجموعة الرابعة تلقت مستخلص الإيثانولي لنبات البابونج (500 مجم/كجم)، والمجموعتان الخامسة والسادسة تلقتا حقنة واحدة من الهارمين (40 مجم/كجم) والمستخلص الإيثانولي لنبات البابونج (200 مجم/كجم) أو (500 مجم/كجم) لمدة 21 يومًا، وتعرضت جميع المجموعات للإجهاد عن طريق اختبار السباحة الإجماري . وكشفت نتائج الدراسة عن أن التعرض للهارمين (H) أدى إلى تحفيز السلوك القلق لدى الفئران مصحوباً بزيادة كبيرة في الوزن وزيادة في حجم الكبد والكلى. وبالإضافة إلى ذلك، تسبب هذا التعرض في ارتفاع طفيف في مستويات الكوليسترول الكلي في الدم، وزيادة كبيرة في مستويات مالونديالدهيد (MDA) ، مما يشير إلى زيادة الإجهاد التأكسدي. كان هناك أيضًا انخفاض ملحوظ في القدرة الكلية المضادة للأكسدة في الكبد والكلى والدماغ، وهو ما يتضح من انخفاض مستويات الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل الجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) والجلوتاثيون إس-ترانسفيراز (GST) ، وكذلك الجلوتاثيون المختزل (GSH). بالإضافة إلى ذلك، تم تثبيط نشاط إنزيم الأسيتيل كولينستيراز (AChE) في موازاة ذلك، أظهر العلاج بمستخلص الإيثانولي للبابونج (EEC) تأثيرًا وقائيًا كبيرًا على وزن الأعضاء، مما خفف بشكل فعال من الآثار الضارة التي يسببها الهارمين. كما تم إجراء تحليل مجهري لأنسجة الكبد والكلى لتقييم هذه المعايير. ومن المهم الإشارة إلى أن الملاحظات لم تكشف عن أي تغييرات كبيرة في مورفولوجيا أو بنية الأعضاء بعد العلاج بالهارمين والمركب الكهرومغناطيسي الإلكتروني. تشير هذه المرونة إلى أن مستخلص نبات البابونج يمتلك نشاطًا كبيرًا مضادًا للجذور الحرة، مما يوفر حماية ضد التأثيرات التأكسدية التي يسببها الهارمين على الكبد، والكلى، والدماغ وبالتالي يكشف عن إمكاناته كعامل مزيل للقلق ومضاد للأكسدة.

**الكلمات المفتاحية:** الهارمين، البابونج، المستخلص الإيثانولي، السمية العصبية، السلوك، القلق، المعلمات الكيميائية الحيوية، الإجهاد التأكسدي، فأر الوبستار.

# SOMMAIRE

<b>1.</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>9</b>
<b>2.</b>	<b>Matériel &amp; Méthodes .....</b>	<b>10</b>
2.1	Produits chimiques .....	10
2.2	Matière végétale .....	10
2.3	Préparation de l'extrait éthanolique .....	11
2.3.1	Calcul du rendement .....	12
2.4	Elevage d'animaux .....	12
2.5	Méthode expérimentale .....	12
2.5.1	Induction du stress .....	12
2.5.2	Traitement des animaux .....	13
2.6	Evaluation du comportement lié à l'anxiété .....	14
2.6.1	Test du champ libre (Open Field) .....	14
2.6.2	Test de croix surélevée (Elevated Plus Maze) .....	15
2.7	Collecte et conservation des échantillons de sang .....	15
2.8	Mesure des marqueurs hormonaux et biochimiques .....	17
2.8.1	Evaluation du taux d'hormone adrénocorticotrope (ACTH) .....	17
2.8.2	Taux de glucose sanguin .....	17
2.8.3	Taux de cholestérol total .....	18
2.9	Analyse de l'état de stress oxydatif .....	18
2.9.1	Teneur en protéines .....	18
2.9.2	Détermination du taux tissulaire du malondialdéhyde (MDA) .....	18
2.9.3	Dosage du glutathion réduit (GSH) .....	19
2.10	Evaluation de l'activité des enzymes antioxydantes .....	20
2.10.1	Dosage du glutathion peroxydase (GPx) .....	20
2.10.2	Dosage du glutathion S-transférase (GST) .....	21
2.11	Evaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase cérébrale (AChE) .....	22
2.12	Examen histopathologique .....	23
2.13	Analyse des données .....	24
<b>3.</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>25</b>
3.1	Effet du traitement sur le comportement anxieux.....	25
3.1.1	Test du champ libre (Open Field).....	25
3.1.2	Test de croix surélevée (Elevated Plus Maze).....	27

3.2	Effets du traitement sur le niveau d'hormone de stress (ACTH) .....	30
3.3	Effets du traitement sur le poids corporel des rats.....	30
3.4	Effets du traitement sur le poids absolu et relatif des organes .....	31
3.5	Effets du traitement sur le bilan énergétique .....	32
3.6	Effets du traitement sur la fonction cérébrale.....	33
3.6.1	Effets du traitement sur la peroxydation lipidique (LPO) et les niveaux de glutathion réduits (GSH) dans le cerveau des rats .....	33
3.6.2	Activité de l'AChE dans le cerveau et effets du traitement sur les activités des enzymes antioxydantes.....	34
3.7	Effets du traitement sur la fonction hépatique .....	36
3.7.1	Effets du traitement sur la peroxydation lipidique (LPO) et les niveaux de glutathion réduits (GSH) du foie .....	36
3.7.2	Effets du traitement sur les enzymes antioxydantes hépatiques .....	37
3.8	Effets du traitement sur la fonction rénale.....	38
3.8.1	Effets du traitement sur la peroxydation lipidique (LPO) et les niveaux de glutathion réduits (GSH) dans les reins .....	38
3.8.2	Effets du traitement sur les enzymes antioxydantes rénales .....	39
3.9	Analyse histologique.....	40
3.9.1	Effet du traitement sur l'architecture du cerveau .....	40
3.9.2	Effet du traitement sur l'architecture de la glande surrénale .....	42
3.9.3	Effet du traitement sur l'architecture du foie .....	44
3.9.4	Effet du traitement sur l'architecture des reins .....	46
<b>4.</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>48</b>
<b>5.</b>	<b>Conclusion &amp; Perspectives .....</b>	<b>58</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>60</b>
	<b>Annexes .....</b>	<b>70</b>
	<b>Production scientifique .....</b>	<b>72</b>

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b>	Structures fondamentales des alcaloïdes indoliques et de leurs composés précurseurs.
<b>Figure 2.</b>	Structure chimique de l'harmine (7-methoxy-1-methyl- $\beta$ -carboline) (photo originale)
<b>Figure 3.</b>	<i>Matricaria chamomilla</i> L (photo prise durant l'étude)
<b>Figure 4.</b>	Procédure d'extraction éthanolique par évaporateur rotatif (photos prises lors de l'extraction)
<b>Figure 5.</b>	Test de la nage forcée (photo prise durant l'étude)
<b>Figure 6.</b>	Test du champ libre (Open Field, OF) (photo prise durant l'étude)
<b>Figure 7.</b>	Test de Croix surélevée (Elevated Plus Maze, EPM) (photo prise durant l'étude)
<b>Figure 8.</b>	Diagramme récapitulatif du protocole expérimental.
<b>Figure 9.</b>	Effets de l'expérience des tests sur le comportement dans le labyrinthe en champ ouvert chez les rats (n = 8).
<b>Figure 10.</b>	Effets de l'expérience des tests sur le comportement dans le labyrinthe en croix surélevé chez les rats (n = 8).
<b>Figure 11.</b>	Taux d'hormone adrinocorticotrope dans le sérum des rats témoins et traités après 21 jours.
<b>Figure 12.</b>	Effet de l'harmine et de l'extrait éthanolique de <i>M. chamomilla</i> sur (A) la glycémie et (B) le taux de cholestérol après 21 jours.
<b>Figure 13.</b>	Effet de l'harmine et de l'extrait éthanolique de <i>M. chamomilla</i> sur les niveaux de MDA et de GSH dans le cerveau après 21 jours.
<b>Figure 14.</b>	Réponse de l'activité l'acétylcholinestérase (AChE) chez les rats témoins et traités après 21 jours.
<b>Figure 15.</b>	Effet de l'harmine et de l'extrait éthanolique de <i>M. chamomilla</i> sur les niveaux de MDA et de GSH dans le foie après 21 jours.
<b>Figure 16.</b>	Réponse de l'activité des enzymes antioxydantes hépatiques (GPx, GST) chez les rats témoins et traités après 21 jours.
<b>Figure 17.</b>	Effet de l'harmine et de l'extrait éthanolique de <i>M. chamomilla</i> sur les niveaux de MDA et de GSH dans les reins après 21 jours.

<b>Figure 18.</b>	Réponse de l'activité des enzymes antioxydantes rénales (GPx, GST) chez les rats témoins et traités après 21 jours.
<b>Figure 19.</b>	Examens photomicrographiques de coupes de tissus cérébrale colorées à l'hématoxyline et à l'éosine de rats <i>Wistar</i> .
<b>Figure 20.</b>	Photomicrographies de coupes de tissus de glandes surrénales colorées (H&E) de rats <i>Wistar</i>
<b>Figure 21.</b>	Examens photomicrographiques de coupes de tissus hépatiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine de rats <i>Wistar</i>
<b>Figure 22.</b>	Photomicrographies de coupes de tissus rénaux colorés (H&E) de rats <i>Wistar</i>

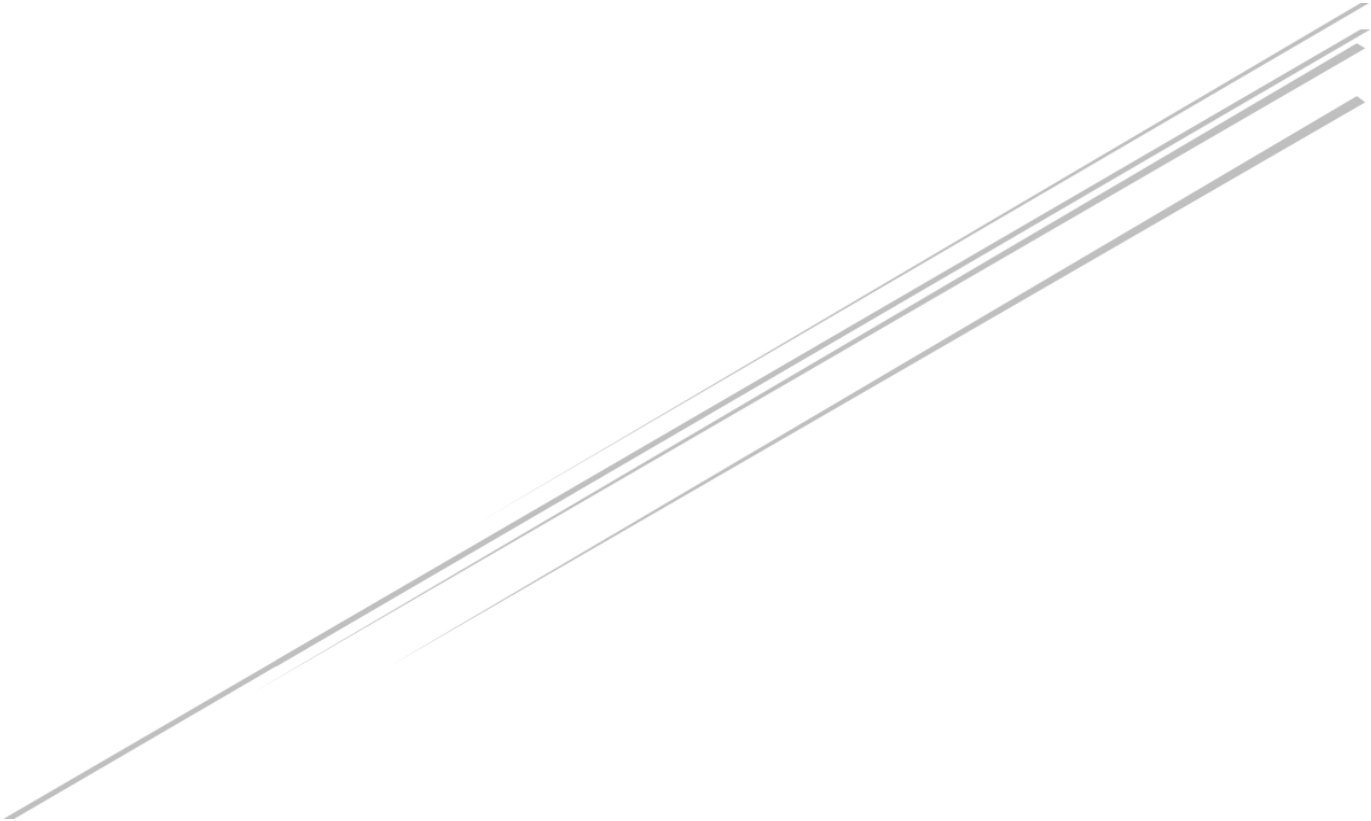
# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b>	Procédé de coloration de Hould.
<b>Tableau 2.</b>	Changements dans le poids corporel total et le gain de poids sur une période de 21 jours.
<b>Tableau 3.</b>	Mesures et variations du poids des organes chez les rats témoins et expérimentaux au cours de l'étude.
<b>Tableau 4.</b>	Changements dans les marqueurs métaboliques chez les rats de différents groupes sur une période de 21 jours.
<b>Tableau 5.</b>	Taux de malondialdéhyde et de glutathion réduit dans le cerveau sur une période de 21 jours chez le groupe témoin (C) et les rats traités (H ; EEC ; H + EEC).
<b>Tableau 6.</b>	Niveaux de malondialdéhyde et de glutathion réduit dans le foie sur une période de 21 jours dans le foie de rats témoins et traités.
<b>Tableau 7.</b>	Taux de malondialdéhyde et de glutathion réduit dans les reins sur une période de 21 jours chez le groupe témoin (C) et les rats traités (H ; EEC ; H + EEC).

# LISTE DES ABREVIATIONS

<b>4-AP</b>	4-AMINOPHENAZONE
<b>5-HT1A</b>	5-hydroxy tryptamin 1A
<b>5-HT2A</b>	5-hydroxy tryptamin 2A
<b>5-HT2C.</b>	5-hydroxy tryptamin 2C
<b>ACH</b>	Acétylthiocholine
<b>ACHE</b>	Acétyle cholinestérase
<b>ACOH</b>	Acide acétique
<b>ACTH</b>	Hormone adrénocorticotrope
<b>BHE</b>	Barrière hémato-encéphalique
<b>CDNB</b>	1-chloro-2,4-dinitrobenzène
<b>CHE</b>	Cholestérol estérase
<b>CHOD</b>	Cholestérol oxydase
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose létale 50%
<b>DMSO</b>	Di méthyl sulfoxyde
<b>DTNB</b>	Acide 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoïque
<b>EDTA</b>	Ethylène diamine tétra acétique
<b>EEC</b>	Extrait éthanolique de camomille
<b>EPM</b>	Elevated Plus Maze
<b>ERO</b>	Espèces réactives d'oxygène
<b>FST</b>	Forced swimming test (test de la nage forcée)
<b>GABA</b>	Acide gamma-aminobutyrique
<b>GOD</b>	Glucose oxydase
<b>GPX</b>	Glutathion peroxydases
<b>GSH</b>	Glutathion réduit
<b>GSSG</b>	Glutathion oxydé
<b>GST</b>	Glutathion S transférase
<b>H</b>	Harmine
<b>H &amp; E</b>	Héματοxyline-Eosine
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>HDL</b>	Hight density lipoproteins (lipoprotéines de haute densité)
<b>HHS</b>	Hypothalamo-hypophyso-surrénalien

<b>LDL</b>	Lower density lipoproteins (lipoprotéines de basse densité)
<b>LPO</b>	Peroxydation lipidique
<b>MDA</b>	Malondialdéhyd
<b>NACL</b>	Chlorure de sodium
<b>NMDA</b>	N-méthyl-D-aspartate
<b>OF</b>	Open Field
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>PBS</b>	Tampon bffered saline (tampon phosphate salin)
<b>POD</b>	Peroxydase
<b>SEM</b>	Erreur standard de la moyenne
<b>-SH</b>	Groupement sulfhydryle (thiol)
<b>SSA</b>	Acide sulfosalicylique
<b>TBA</b>	Acide thiobarbiturique
<b>TBS</b>	Tris buffered salin
<b>TCA</b>	Acide trichloracétique
<b>VLDL</b>	Very Lower density lipoproteins (lipoprotéines de très basse densité)



# **INTRODUCTION**

## 1. Introduction

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a toujours été intrigué par les plantes, qui s'imposent sur la planète par leur apparence, leur profusion et leur énigme (**De Gubernatis, 2023**). D'une part, il a cherché chez les végétaux des sources de nourriture et un moyen de guérison traditionnel. En effet, les plantes ont été utilisées pour leurs vertus thérapeutiques, offrant à l'Homme des remèdes naturels à divers maux. Cette relation étroite entre l'homme et les plantes témoigne de la dépendance de l'homme envers le monde végétal, non seulement pour la nourriture mais aussi pour le maintien de notre santé.

La médecine traditionnelle, telle que définie par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), est l'utilisation de remèdes thérapeutiques, souvent à base de plantes, qui ont été utilisés traditionnellement dans différentes cultures (**Farzaei et al., 2020**). Les préparations phytothérapeutiques sont créées à partir d'éléments organiques issus de diverses sections des plantes, incluant notamment les fleurs, les feuilles, les tiges, les graines et les racines (**Dhakad et al., 2019**). Ces éléments sont produits par des processus biosynthétiques et transformés en produits finis en utilisant des matières premières renouvelables et des méthodes respectueuses de l'environnement. Ces substances organiques, qui jouent un rôle crucial dans les processus physiologiques des plantes, sont souvent jugées compatibles avec l'organisme humain. Par ailleurs, les remèdes fabriqués à partir de plantes sont fréquemment perçus comme étant sûrs en raison de leur origine naturelle (**Bettioli et al., 2018**).

Cependant, cette relation avec les plantes n'est pas sans risques. Des études ont montré qu'elles ne sont pas toutes sûres pour un usage humain direct, en particulier chez les enfants (**Mie et al., 2017**). Au fil du temps, l'homme a dû apprendre à discerner les plantes toxiques des plantes bénéfiques, un savoir qui n'a pas toujours été évident. En effet, les risques d'intoxication végétale sont réels et peuvent survenir par suite des confusions, à l'emploi vernaculaires génériques appliqués à différentes espèces n'ayant rien en partage avec la thérapie, ou à des surdosages thérapeutiques. Ces confusions peuvent entraîner des conséquences très graves, allant jusqu'à l'empoisonnement. De ce fait, on a parfois oublié que la nature, bien qu'elle soit une grande pourvoyeuse d'aliments et de remèdes, constitue aussi un réservoir redoutable de poisons (**Benamrouche et al., 2021**).

Récemment, un intérêt renouvelé pour la nature s'est manifesté dans les pays en développement, entraînant une recrudescence des risques liés aux plantes. Actuellement, la menace que représentent les risques naturels reste significative, en particulier dans les pays où

les traditions culturelles liées à l'utilisation des plantes est toujours vivante, du fait du manque de moyens financiers et de l'insuffisance des infrastructures sanitaires (**Zeggwagh et al., 2013**). Il est important de noter que toutes les plantes utilisées dans les traitements médicaux ne sont pas sans danger. Un végétal peut être bénéfique en tant que médicament lorsqu'il est utilisé en petite quantité et de manière contrôlée, mais il peut se transformer en risque pour la santé humaine s'il est mal utilisé (**Plassart, 2015**).

De nombreux rapports existent concernant les effets indésirables associées à l'usage de plantes employées dans les traitements traditionnels. Les recherches indiquent que l'utilisation continue de certaines herbes thérapeutiques peut provoquer des complications incluant des troubles respiratoires, des lésions hépatiques durables et, dans des situations plus critiques, une altération cérébrale (**Boussahel, 2018**).

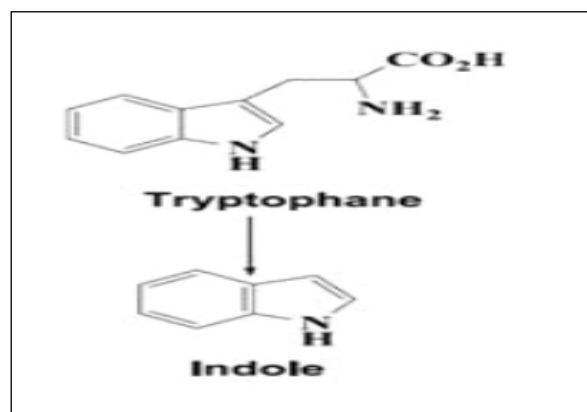
Récemment, on observe une montée notable des cas d'empoisonnement liés à l'utilisation des plantes, avec des incidences qui ont grimpé à des niveaux préoccupants (**Baba Aïssa, 2016**). Chaque année, les services d'urgence hospitaliers signalent des centaines d'incidents d'intoxication, dont certains sont fatals, provoqués par une utilisation inappropriée de plantes ornementales ou sauvages, souvent due à un manque de connaissances sur leurs propriétés toxiques (**Hammiche et al., 2013**). L'OMS estime que près de 10 % de cas d'intoxication végétales dans le monde (**Konaté, 2023**). Des recherches récentes indiquent que les plantes sont responsables d'environ 3,5 % de l'ensemble des cas d'intoxication dans les pays développés, et 4,87 % dans le monde entier. Cependant, 559 des 1 749 expositions à des plantes sont survenues chez des enfants (**Tadmori et al., 2022**).

Dans divers pays méditerranéens, l'usage abondant de substances naturellement toxiques a été observé. Des plantes comme le *Harmal*, le *Pavot*, le *Ricin* ou la *Scille* ont souvent été impliquées dans des cas d'intoxications alimentaires ou accidentelles (**Hammiche et al., 2013**). Les plantes ont de tout temps joué un rôle essentiel dans la vie de tous les jours. L'exploration et la compréhension des caractéristiques des plantes, en particulier celles qui sont toxiques, ont toujours été une quête permanente, suscitant à la fois admiration et prudence (**Montanari et Flandrin, 2016**). La dangerosité d'une plante dépend de divers éléments. Il est important de tenir compte de facteur de la plante ingéré, de sa teneur en principe actif ainsi que des composés chimiques qu'elle renferme. Les substances potentiellement dangereuses pour les humains et les animaux, telles que les alcaloïdes, les glycosides, les saponines ou les oxalates, font partie de ces composés (**Anywar, 2020**).

Les alcaloïdes, appartenant à un vaste groupe de métabolites secondaires végétaux, se caractérisent par leur faible poids moléculaire et la présence d'au moins un atome d'azote dans un cycle, souvent issus d'acides aminés (Ferreira et al., 2020). Représentant un ensemble crucial parmi les composés organiques naturels qui se trouvent dans diverses familles botaniques, ils se distinguent par une incroyable diversité, tant en termes de structure que de voies de biosynthèse, avec plus de 20 000 entités chimiques réparties dans environ 20 % des espèces de plantes vasculaires (Matsuura et Fett-Neto, 2015). Selon (Tidjani et Rhouati, 2016) cette diversité est illustrée par l'existence de 11 classes principales d'alcaloïdes, telles que les alcaloïdes pyrrolizidiniques, tropaniques, quinolizidiniques, pipéridiniques, pyridiniques, amidazoliques et indoliques, chacune dérivant de précurseurs spécifiques.

Parmi ces classes, les alcaloïdes indoliques se distinguent par leur hétérogénéité et leur large spectre d'activités biologiques, grâce à la présence du groupe fonctionnel indole et du tryptophane comme précurseur biochimique (De Luca et al., 2012). (Ferreira et al., 2020) a examiné ces substances en vue de leur application dans le domaine pharmaceutique, leur emploi en tant que stimulants ou narcotiques, ainsi que pour leur capacité à agir comme agents toxiques. En effet, au-delà de leurs applications bénéfiques, les alcaloïdes jouent un rôle de défense pour les plantes contre les prédateurs et les pathogènes, ce qui témoigne de leur potentiel toxique. Comme le notent (Adamski et al., 2020), elles sont spécifiquement qualifiées de substances parmi les plus dangereuses trouvées dans l'environnement naturel, capables d'avoir un effet négatif sur le métabolisme des animaux et des êtres humains.

Leur toxicité, est influencée par la dose consommée, de la durée d'exposition et de la sensibilité individuelle, ils présentent un risque notable pour les mammifères, étant donné qu'ils peuvent engendrer une gamme variée d'effets sur le système nerveux, allant entre stimulation et l'inhibition, en fonction de la nature et de la quantité de l'alcaloïde impliqué (Djama et Karour, 2020).



**Figure 1.** Structures fondamentales des alcaloïdes indoliques et de leurs composés précurseurs.

Des études ont examiné le métabolisme des alcaloïdes indoliques, leur accumulation, ainsi que le suivi de leur activités enzymatiques et les niveaux de leurs précurseurs (**Matsuura et Fett-Neto, 2015**), révélant un potentiel inhibiteur ou excitateur sur un large éventail d'enzymes et d'hormones essentielles au métabolisme humain (**Ferreira et al., 2020**). Une des fonctions notables de ces substances est leur interaction avec les transporteurs de la sérotonine, et leur capacité à bloquer sa réabsorption (**Martin, 2018**), entraînant ainsi une élévation de sa concentration dans l'espace inter-synaptique. Cela stimule les récepteurs 5-HT1A, influençant les excitations post-synaptiques et pré-synaptiques, diminue leur propre libération et peut provoquer un effet anxiogène à court terme (**Sermoz, 2015**). Ces interactions avec la sérotonine, un neurotransmetteur clé dans la régulation de l'humeur, du sommeil, de la perception de la douleur, de la réponse au stress, de l'activité psychomotrice, et le contrôle de l'anxiété (**Jiang et al., 2019**), peuvent influencer sur les niveaux de sérotonine cérébrale, affectant ainsi l'anxiété. Des études suggèrent que les déséquilibres dans les concentrations de sérotonine sont liés à l'émergence de troubles de l'anxiété, en particulier via le contrôle de la synthèse du cortisol, une hormone impliquée dans la régulation du stress corporel.

La reconnaissance de l'importance cruciale de mesurer l'anxiété et la dépression dans des modèles animaux est désormais bien établie. Les troubles de l'anxiété apparaissent précocement et touchent un grand nombre de jeunes adultes, environ 29 %, tandis que 17 % souffrent de dépression (**Fortress et al., 2018**), constituant ainsi un fardeau considérable pour les systèmes de santé. Ces troubles sont souvent associés à diverses pathologies, y compris neurologiques, métaboliques et cardiovasculaires, ce qui entraîne une diminution significative de la qualité de vie (**Harro, 2018**). L'anxiété et la dépression, composantes de nombreuses affections (**Tassé, 2019**), se caractérisent par une gamme de symptômes incluant des troubles alimentaires et du sommeil, une perte d'intérêt et de plaisir, une fatigue, une difficulté de concentration, ainsi que des dysfonctionnements de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien ou des problèmes de neuroplasticité (**Fortunato et al., 2010**). Chez les animaux, ces conditions se traduisent par une activité physique diminuée, un comportement de repos accru et un toilettage facial unilatéral. Pour évaluer l'état d'anxiété, des tests tels que le champ ouvert (Open Field ;OF) et le labyrinthe en croix surélevé (Elevated Plus Maze ;EPM) sont utilisés pour observer le comportement exploratoire et la réactivité dans un environnement

inconnu, La locomotion, mesurée par la distance parcourue, et le comportement d'élévation, observé quand l'animal se tient sur ses pattes arrière, sont indicatifs d'un ralentissement psychomoteur (réduction de l'activité motrice), servant ainsi d'indicateurs de l'anxiété et de la dépression (Zhang et al., 2017).

À la suite de l'analyse des techniques pour mesurer l'anxiété et la dépression basées sur l'observation du comportement des animaux, il est judicieux d'examiner certains composants naturels des plantes remarquables pour leurs influences prononcées sur le système nerveux, notamment en raison de leurs effets anxiogènes. *Peganum harmala* est un exemple notable, ayant été la cible de recherches multiples qui ont cherché à évaluer son influence sur les niveaux d'anxiété. Ces études ont mis en évidence la complexité des relations entre les éléments phytochimiques de la plante et la neurobiologie liée à l'anxiété.

*Peganum harmala* L., fréquemment appelé *Harmal* en Algérie, est une espèce appartenant à la famille des *Zygophylaceae*. Cette plante se trouve principalement à l'état sauvage dans la région méditerranéenne, mais sa présence est également notée en Asie centrale et en Afrique du Nord (Zhu et al., 2022). Il s'agit d'un arbuste qui peut mesurer jusqu'à un mètre de hauteur, caractérisé par des fleurs blanches distinctives, des racines courtes et étendues, et des capsules qui renferment de nombreuses graines (Lamchouri, 2014). Les diverses parties de la plante, y compris les graines, les éléments aériens, les fruits et la plante entière, ont été au cœur de nombreuses études scientifiques récentes en raison de leurs propriétés biologiques et pharmacologiques impressionnantes. On leur attribue notamment une activité anticancéreuse efficace (Zhang et al., 2014), anti-inflammatoires (Bensalem et al., 2014), antipyrétiques (Moloudizargari et al., 2013), antibactériennes (Pradeep Kumar et al., 2014), des effets bénéfiques dans le traitement du parkinsonisme (Liu et al., 2015), et ils sont considérés comme potentiels dans la prise en charge de la maladie d'Alzheimer (He et al., 2015) et pour le traitement de plusieurs autres affections humaines (Li et al., 2017).

Les graines de *P. harmala*, qui ont été incluses dans les Normes de médicaments du ministère de la Santé publique de la République populaire de Chine (Section pharmaceutique Uygur) (Wang et al., 2019), se distinguent particulièrement par leur forte concentration en alcaloïdes  $\beta$ -carboline de type indolique, que les autres parties de la plante. Ces alcaloïdes incluent des composés tels que l'harman, l'harmine et l'harmaline avec une teneur totale supérieure à 50 %, et la teneur de certains alcaloïdes traces tels que la vasicine, l'harmalol et l'harmol, sont de 2,53 %, 0,5 % et 0,08 % respectivement (Liu et al., 2013). Outre ces alcaloïdes, les graines

contiennent aussi des quantités modérées de polyphénols (**Senhaji et al., 2022**), de flavonoïdes (**Arif et al., 2022**) et de saponines (**Iranshahy et al., 2019**), contribuant à leur richesse en composés bénéfiques.

Bien que l'utilisation de *P. harmala* en médecine traditionnelle pour ses nombreuses propriétés pharmacologiques soit bien établie, il est essentiel de reconnaître que la richesse en alcaloïdes de leurs graines est une épée à double tranchant. D'un côté, ils contribuent aux propriétés thérapeutiques de la plante, mais de l'autre, ils peuvent également engendrer des effets indésirables (**Rezzagui et al., 2020**). Il est devenu évident que la structure chimique d'une substance est intrinsèquement liée à sa fonction physiologique (**Laribi et al., 2022**). Les effets des plantes dans leur forme naturelle peuvent différer de ceux des composés purs isolés. Les produits chimiques synthétiques dérivés de plantes sont souvent hautement actifs sur le plan physiologique, mais peuvent entraîner des effets secondaires imprévus. À l'inverse, les médicaments à base de plantes, issus d'organismes vivants, sont généralement mieux tolérés par le corps (**Laribi et al., 2022**).

Grâce aux avancées scientifiques, il est désormais possible d'isoler des composés actifs à l'état pur et, dans certains cas, de les synthétiser entièrement. Cela a conduit à la production de substances actives artificielles en grande quantité, comme c'est le cas pour l'harmine.

En effet, l'harmine est un produit naturel largement répandu dans de nombreuses plantes et est reconnu comme étant le principal alcaloïde  $\beta$ -carboline extrait des graines de *P. harmala* (**Nakagawa et al., 2010**). L'évaluation du métabolisme de cet alcaloïde, tant *in vivo* qu'*in vitro*, révèle des conséquences néfastes après une surcharge (**Ghizlane et al., 2021**). Diverses études ont attiré l'attention sur l'intoxication par l'harmine de l'homme et de l'animal (**Herraiz et al., 2010; Li et al., 2016; Moloudizargari et al., 2013**), qui se manifeste par des modifications des fonctions rénales et hépatiques chez l'homme et le rat à la dose de 100 mg/kg (**Mohamed et al., 2013**). Elle entraîne des malaises et des troubles digestifs et une anémie, en raison de l'accumulation des alcaloïdes de la  $\beta$ -carboline, tels que l'harmaline et l'harmine, qui peuvent représenter jusqu'à 4,3 % et 5,6 % du poids corporel respectivement (**Wang et al., 2019**).

Chez l'homme, l'ingestion de fortes doses de graines peut provoquer divers symptômes, notamment des hallucinations visuelles, de l'hypertension, une tachycardie, une tachypnée, une ataxie, des nausées, des vomissements et des tremblements (**Shabani et Naderi, 2022**). Il

a été également démontré que l'harmine interagit avec plusieurs types de récepteurs à la surface des cellules (**Fortunato et al., 2010**), illustrés par exemple par l'induction d'effets tels que l'hypothermie, les hallucinations et les tremblements via un mécanisme sérotonergique, en interagissant avec les récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> et 5-HT<sub>2C</sub>. (**Chen et al., 2005**) ont conclu que les  $\beta$ -carbolines, telles que l'harmine et l'harmaline, provoquent également une neurotoxicité aiguë significative.

Bien que de nombreuses recherches ont mis en lumière le potentiel toxique de certaines plantes et de leurs dérivés, il est essentiel de reconnaître que de nombreux végétaux riches en composés phytochimiques possèdent un fort pouvoir antioxydant et anxiolytiques bénéfiques pourraient être efficaces dans le traitement ou la prévention contre de nombreuses affections (**Alchlabi Et Abdul-Rahman, 2019**). Ces substances naturelles, à travers des mécanismes d'action spécifiques et souvent en interaction avec plusieurs systèmes de l'organisme (digestif, circulatoire et neurologiques) peuvent aider à moduler l'anxiété sans effets secondaires, tout en apportant des antioxydants indispensables à l'organisme, essentiels pour contrer les effets néfastes des radicaux libres (**Akbari et al., 2022**). Cette distinction est importante, car il a été rapporté qu'il existerait environ 300000 espèces de plantes médicinales et que seulement 10 % ont été étudiées d'un point de vue phytochimique et pharmacologique (**Newman et Cragg, 2012**). Au sein de la diversité botanique, la famille des Astéracées se distingue, notamment avec *Matricaria chamomilla*, plus communément désignée sous le nom de *Camomille allemande* ou *Matricaria recutita* L., reconnue pour ses nombreuses vertus thérapeutiques et ayant fait l'objet d'investigations scientifiques approfondies.

Les études menées sur des modèles animales ont révélé les vertus thérapeutiques de la Camomille, soulignant notamment son rôle dans la diminution du stress oxydatif, un élément clé dans le processus de vieillissement des cellules et le développement de nombreuses pathologies chroniques (**Sebai et al., 2015**). En outre, l'utilisation d'extraits de *M. chamomilla* a montré une amélioration notable des fonctions rénale (**Jabri et al., 2017; Sebai et al., 2015**), gastrique (**Bulgari et al., 2012**), hépatique (**Khan et al., 2014**) et même cérébrale, notamment par la protection contre les dommages neuronaux de l'hippocampe observés chez les rats présentant des déficits mnésiques (**Al-Snafi et Lawahidh Fali, 2023**), affirmant ainsi son efficacité dans la préservation de la vitalité des organes essentiels. Les bénéfices observés sont liés à ses capacités antidiabétiques (**Al-Dabbagh et al., 2019**), antioxydantes (**Jabri et al., 2020**), et à ses effets anxiolytiques (**Amsterdam et al., 2020**). Des recherches récentes ont également identifié des propriétés antidépressives de la Camomille romaine chez les sujets

animaux soumis à un stress, en stimulant la neurogenèse hippocampique et en équilibrant les niveaux de corticostérone sanguine par une régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) (**Hashikawa-Hobara et al., 2019**). Elle présente également une capacité préventive, en boostant l'activité motrice et réduisant le temps d'immobilité durant le test de nage forcée chez les rats non stressés (**Kong et al., 2017**), ce qui met en lumière le rôle significatif des composés chimiques de la Camomille dans ses usages thérapeutiques.

La Camomille allemande est particulièrement riche en composés bioactifs, y compris les tanins, connus pour leurs effets astringents et leur capacité à protéger les tissus; les polysaccharides, qui jouent un rôle crucial dans le soutien du système immunitaire; les spiroéthers, contribuant à ses effets antispasmodiques; les coumarines, avec leurs propriétés anticoagulantes (**Bhattacharjee et al., 2022**); les terpénoïdes, offrant des bénéfices anti-inflammatoires; les flavonoïdes avec 0,5 % de la matière sèche, célébrés pour leur action anti-inflammatoire et antioxydante qui aident à réduire et à réguler les activités cellulaires et à lutter contre le stress oxydatif (**Boncan et al., 2020**); et les polyphénols totaux avec 420,35 mg/100g de poids frais (**Al-Snafi et Lawahidh Fali, 2023**), qui sont des antioxydants puissants contribuant à la prévention de maladies chroniques et au maintien de la santé cardiovasculaire et cérébrale (**Qureshi et al., 2019**).

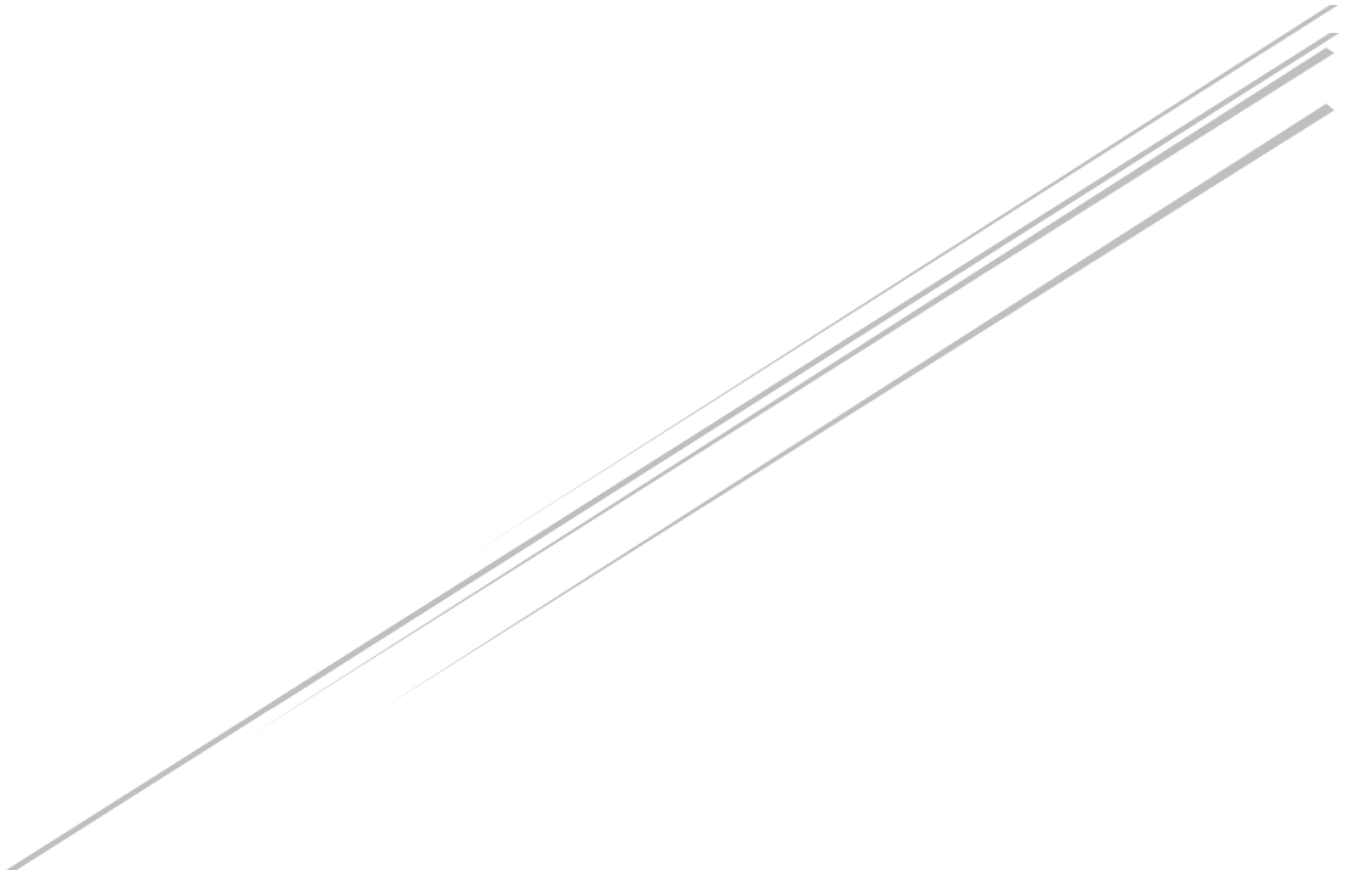
En plus de ces composés spécifiques à la Camomille, les plantes en général sont des sources riches en polyphénols. Ces derniers sont reconnus pour leur capacité à moduler de nombreux processus physiologiques et moléculaires, notamment en influençant positivement le métabolisme énergétique (**Barcin-Güzeldere et al., 2022**). Cette interaction entre les polyphénols et les fonctions corporelles souligne l'impact significatif que la phytothérapie peut avoir sur la santé globale, offrant une alternative aux médicaments conventionnels pour la gestion et la prévention de diverses conditions de santé.

Cette thèse vise à explorer les effets pharmacologiques et toxiques, ainsi que les répercussions comportementales et endocriniennes de l'alcaloïde  $\beta$ -carboline, Harmine, sur des rats *Wistar*. De plus, cette recherche examinera les propriétés préventives de la plante *Matricaria chamomilla* face à ces effets.

L'étude se concentre sur l'analyse de l'efficacité protectrice de l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* sur des rats exposés à l'harmine, à travers plusieurs axes d'évaluation :

- Mesure de divers paramètres liés à la croissance des animaux ;

- Analyse comportementale, effectuée à l'aide de techniques spécifiques telles que l'Open Field (OF) et l'Elevated Plus Maze (EPM), pour étudier leurs interactions avec les systèmes nerveux et endocriniens, y compris la mesure de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH) ;
- Examen des changements dans le métabolisme des lipides et des glucides provoqués par l'exposition ;
- Quantification des marqueurs de stress oxydatif en évaluant les activités de certaines enzymes, comme la glutathion peroxydases (GPx), la glutathion S transférase (GST) et l'acétyle cholinestérase cérébrale (AChE), ainsi que de composants non enzymatiques tels que le glutathion réduit (GSH) et le malondialdéhyde (MDA) dans différents organes (cerveau, foie, reins), afin d'élucider les mécanismes d'action des traitements appliqués ;
- Réalisation d'analyses histologiques sur les organes ciblés tels que le cerveau, les glandes surrénales, le foie et les reins ;
- Discussion approfondie des résultats obtenus au cours de l'étude.

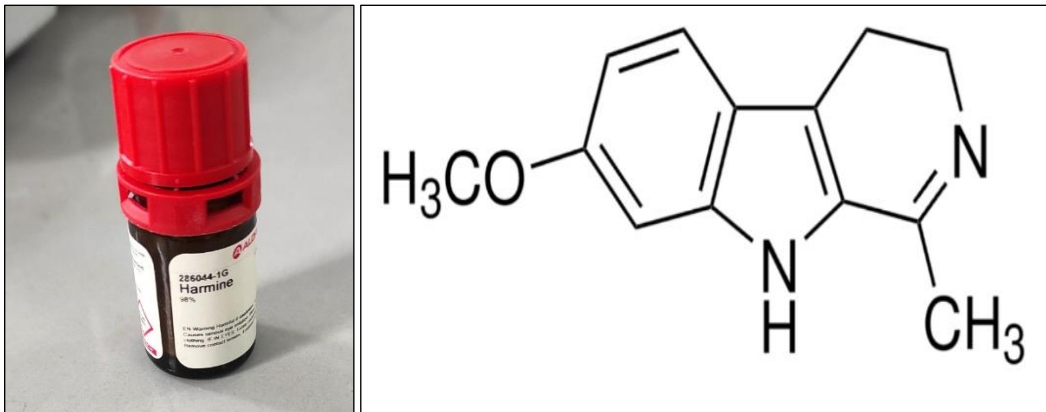


**MATERIEL**  
**&**  
**METHODES**

## 2. Matériel & Méthodes

### 2.1 Produits chimiques

L'harmine (7-méthoxy-1-méthyl- $\beta$ -carboline) est un alcaloïde naturel, appartenant à la famille des  $\beta$ -carbolines, que l'on trouve dans les graines de la plante *Peganum harmala*. Il a été acheté à Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA. Le produit a une pureté de  $\geq 98\%$ . Dans notre étude expérimentale, 9,6 mg d'harmine ont été dissous dans 0,5 ml d'une solution d'acide acétique (AcOH) à 2 % et 0,5 ml d'une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9 %, puis injectés dans le péritoine de l'animal dans les groupes sélectionnés.



**Figure 2.** Structure chimique de l'harmine (7-méthoxy-1-méthyl- $\beta$ -carboline)  
(photo originale)

### 2.2 Matière végétale

*Matricaria chamomilla* est une plante annuelle aromatique de la famille des *Asteraceae*, qui peut atteindre une hauteur de 10 à 60 cm. Les feuilles ovales et plumeuses sont accompagnées de fleurs blanches et parfumées (Al-Snafi et al., 2023). La plante entière de *M. chamomilla* a été achetée en mars dans un magasin commercial à Annaba, en Algérie. L'identité botanique de la plante a été vérifiée et authentifiée par le professeur REBBAS Khellaf, de département de biologie de l'université de M'sila, en Algérie, a vérifié et authentifié l'identité botanique de la plante à partir de la flore algérienne énoncée par (Quezel et Santa, 1962- 1963).



Figure 3. *Matricaria chamomilla* L (photo prise durant l'étude)

### 2.3 Préparation de l'extrait éthanolique

L'extrait éthanolique de *M. chamomilla* (EEC) a été préparé en faisant macérer 100 grammes de poudre de *M. chamomilla*, séchée et réduite en fine poudre à l'aide d'un molinex, dans 1 litre d'éthanol à 70 % dans un rapport de (1 :10), sous agitation. Après 24 heures, le mélange résultant a été filtré sur du papier filtre Whatman. Le filtrat a été concentré dans un évaporateur rotatif sous vide à 45 °C. L'extrait obtenu a été séché dans une étuve réglée à 46 °C (Bohui et al., 2018).

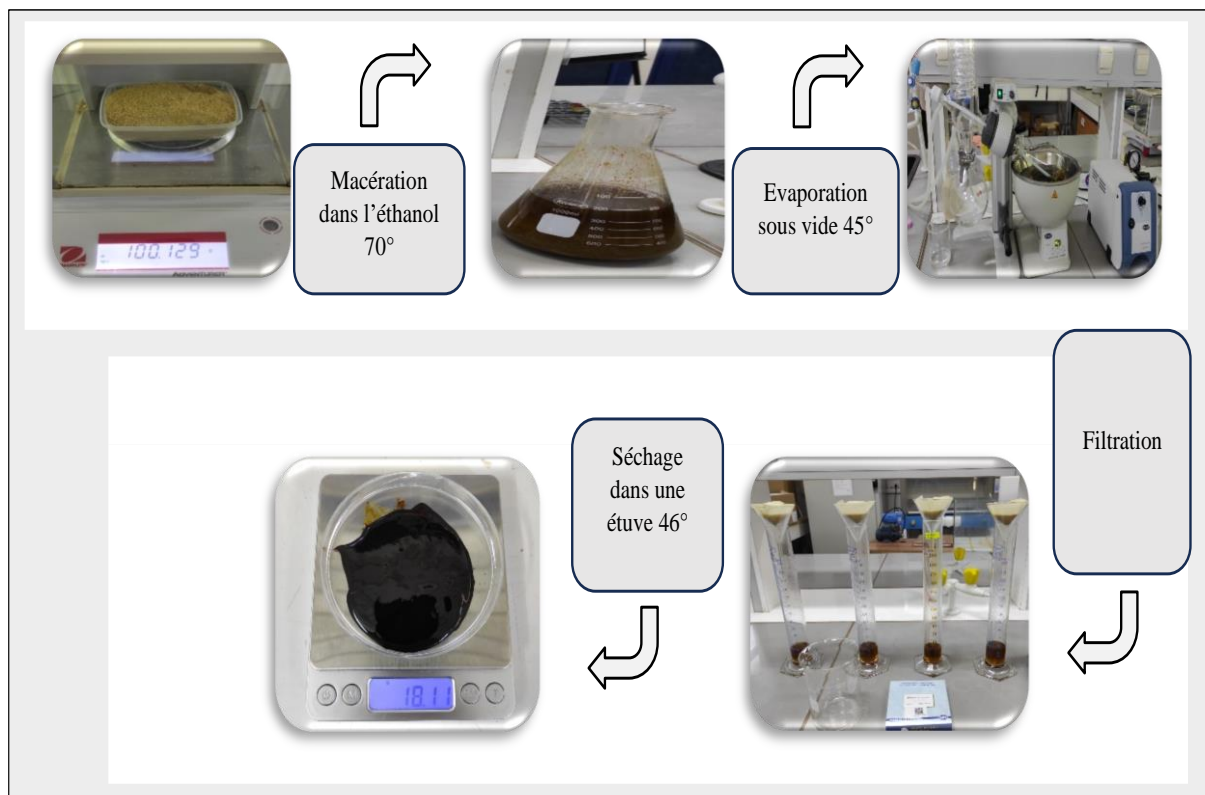


Figure 4. Procédure d'extraction éthanolique par évaporateur rotatif (photos prises lors de l'extraction)

### **2.3.1 Calcul du rendement**

Le rendement a été déterminé en pourcentage à l'aide de la formule :

$$R (\%) = (M/M_0) \times 100$$

- R (%) : Rendement en %
- M : Masse de l'extrait sec obtenu (g)
- M<sub>0</sub> : Masse de l'extrait à traiter (g)

La poudre obtenue a ensuite été conservée à l'abri de la lumière et à température ambiante. La dose a été préparée une fois tous les deux jours et conservée au réfrigérateur (4°C) jusqu'à son administration.

### **2.4 Élevage d'animaux**

48 rats *Wistar* mâles de l'Institut Pasteur d'Alger, pesant  $240 \pm 20$  g, ont été utilisés pour cette étude. Les animaux ont été gardés dans des cages par groupes de huit dans un environnement contrôlé (température constante ( $25 \pm 3$  °C), humidité ( $50 \pm 5$  %) et cycle lumière-obscurité de 12 heures), avec un accès illimité à la nourriture et à la boisson pendant toute la durée de l'expérience. Toutes les méthodes des protocoles ont été appliquées entre 9h00 et 18h00 et approuvées par la Commission d'éthique animale de l'Université UBMA, Annaba, Algérie.

### **2.5 Méthode expérimentale**

#### **2.5.1 Induction du stress**

Le stress a été induit par le test de la nage forcée (FST), une méthode comportementale permettant d'évaluer l'efficacité d'un traitement antidépresseur (**Jiang et al., 2014**). Le principe de base du test est le placement individuel de chaque rat dans un aquarium de 30 cm de large et 40 cm de haut. Chaque rat a subi 20 min de stress du jour 5 au jour 10 après le début de la thérapie. De l'eau à une température de 25 °C est ajoutée à l'aquarium jusqu'à ce qu'il atteigne une hauteur de 35 cm afin d'empêcher le rat d'escalader les bords du dispositif pour s'échapper, ce qui l'oblige à nager.



**Figure 5.** Test de la nage forcée (photo prise durant l'étude)

### 2.5.2 Traitement des animaux

Les animaux ont été répartis en six groupes (n = 8) après deux semaines d'acclimatation.

- **Groupe contrôle** : 1 ml d'eau distillée par voie orale du 11<sup>ème</sup> jour de l'expérience au 21<sup>ème</sup> jour.
- **Groupe H** : a reçu 40 mg/kg de poids corporel d'harmine par une seule injection intrapéritonéale (i.p.) le 1<sup>er</sup> jour de l'expérience.
- **Groupe EEC200** : a reçu 200 mg/kg de poids corporel d'extrait éthanolique de *M. chamomilla* par voie orale du 11<sup>ème</sup> au 21<sup>ème</sup> jour de l'expérience.
- **Groupe EEC500** : 500 mg/kg de poids corporel d'extrait éthanolique de *M. chamomilla* par voie orale du 11<sup>ème</sup> au 21<sup>ème</sup> jour de l'expérience.
- **Groupe EEC200 + H** : 40 mg/kg de poids corporel d'harmine par injection intrapéritonéale (i.p.) le 1<sup>er</sup> jour de l'expérience, puis le 11<sup>ème</sup> jour 200 mg/kg de poids corporel d'extrait de *M. chamomilla* éthanolique par voie orale jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour.
- **Group EEC500 + H** : 40 mg/kg de poids corporel d'harmine par injection intrapéritonéale (i.p.) le 1<sup>er</sup> jour de l'expérience, puis le 11<sup>ème</sup> jour 200 mg/kg de poids corporel d'extrait de *M. chamomilla* éthanolique par voie orale jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour.

Afin de vérifier l'effet des traitements sur l'augmentation du poids des animaux, les rats ont été pesés quotidiennement, à la même heure tous les matins, pendant toute la durée

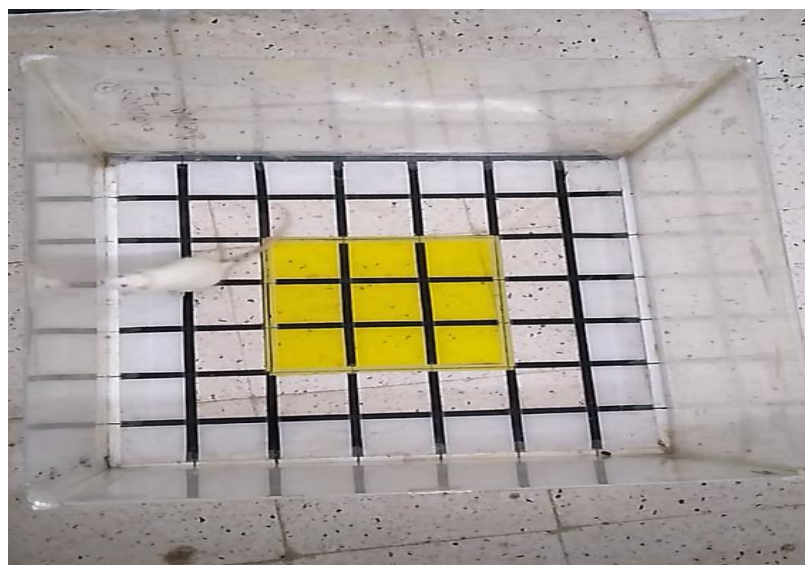
de la période de traitement de 21 jours. Notons que 40 mg/kg H est l'équivalent de la DL50 / 5 de l'alcaloïde harmine découvert par (Moloudizargari et al., 2013). Selon une étude prédéterminée par (Asgharzade et al., 2015), les dosages de l'extrait de EEC ont été sélectionnés.

## **2.6 Évaluation du comportement lié à l'anxiété**

Le quatrième (jour 4) et le dernier (jour 21) jour du gavage, des tests comportementaux ont été effectués sur les différents groupes expérimentaux afin de mesurer le comportement lié à l'anxiété et d'examiner comment le traitement affecte l'activité locomotrice, la capacité d'apprentissage et la mémoire. Les expériences ont été réalisées dans des situations idéales établies.

### **2.6.1 Test du champ libre (Open Field)**

Les rats ont été soumis à un test en champ libre décrit par (Hall, 1934) pour mesurer leur niveau de locomotion, d'exploration et d'anxiété. Le dispositif de champ ouvert se compose d'une base sous forme de carrée (10 × 10 cm de diamètre) entourée de hautes parapets en plexiglas (70 × 70 × 40 cm) et divisée en deux zones : centrale et périphérique. L'animal est placé au centre du champ, le test dur 5 minutes, puis le champ est nettoyé après chaque enregistrement avec une solution d'alcool à 70°. Le déplacement du rat à l'intérieur du dispositif permet de mesurer le temps passé au centre et à la périphérie, sa déambulation (distance et nombre de cases traversées par l'animal), le temps d'immobilité, le temps passé dans les coins et le temps de redressement (temps de station debout sur les pattes arrière).



**Figure 6.** Test de champs libre (Open Field, OF) (photo prise durant l'étude)

### **2.6.2 Test de croix surélevée (Elevated Plus Maze)**

Le test du labyrinthe surélevée (EPM) est un dispositif en bois comportant deux bras ouverts ( $50 \times 10$  cm) croisés avec deux bras fermés en plexiglas ( $50 \times 10 \times 40$  cm) en forme de plus et surélevés de 50 cm par rapport au sol. Chaque rat a été placé au centre du labyrinthe, face à un bras ouvert, et a été soumis à un contrôle manuel de l'enregistrement pendant cinq minutes. Ensuite, le dispositif a été correctement nettoyé avec de l'alcool à 70° après le passage de chaque animal. Le temps total passé dans les bras ouverts et fermés du labyrinthe, le nombre total d'entrées dans les bras, ainsi que le temps et le nombre de redressements ont été notés (Pellow *et al.*, 1985).



**Figure 7.** Test de Croix surélevée (Elevated Plus Maze, EPM) (photo prise durant l'étude)

### **2.7 Collecte et conservation des échantillons de sang**

Au 22ème jour de l'expérience, tous les rats ont été sacrifiés, et le sang a été prélevé, puis recueilli dans des tubes contenant un anticoagulant (EDTA) pour les analyses hormonales (ACTH – hormone adrénocorticotrope) et dans des tubes d'héparine pour les analyses biochimiques (glycémie et cholestérol total). Les organes des rats (cerveau, foie, reins et surrénales) ont ensuite été prélevés rapidement, pesés, rincés avec une solution saline à 0,9 %, et coupés en deux tranches longitudinales égales. Pour l'analyse histologique, une tranche a été immergée dans une solution de formaldéhyde à 10 %. La deuxième tranche a été enveloppée dans du papier Parafilm et conservée à -20 °C jusqu'à ce que les études sur le stress oxydatif (MDA) et le statut antioxydant (GSH, GST, GPx) et enzymatique (AChE) soient ultérieurement déterminées.

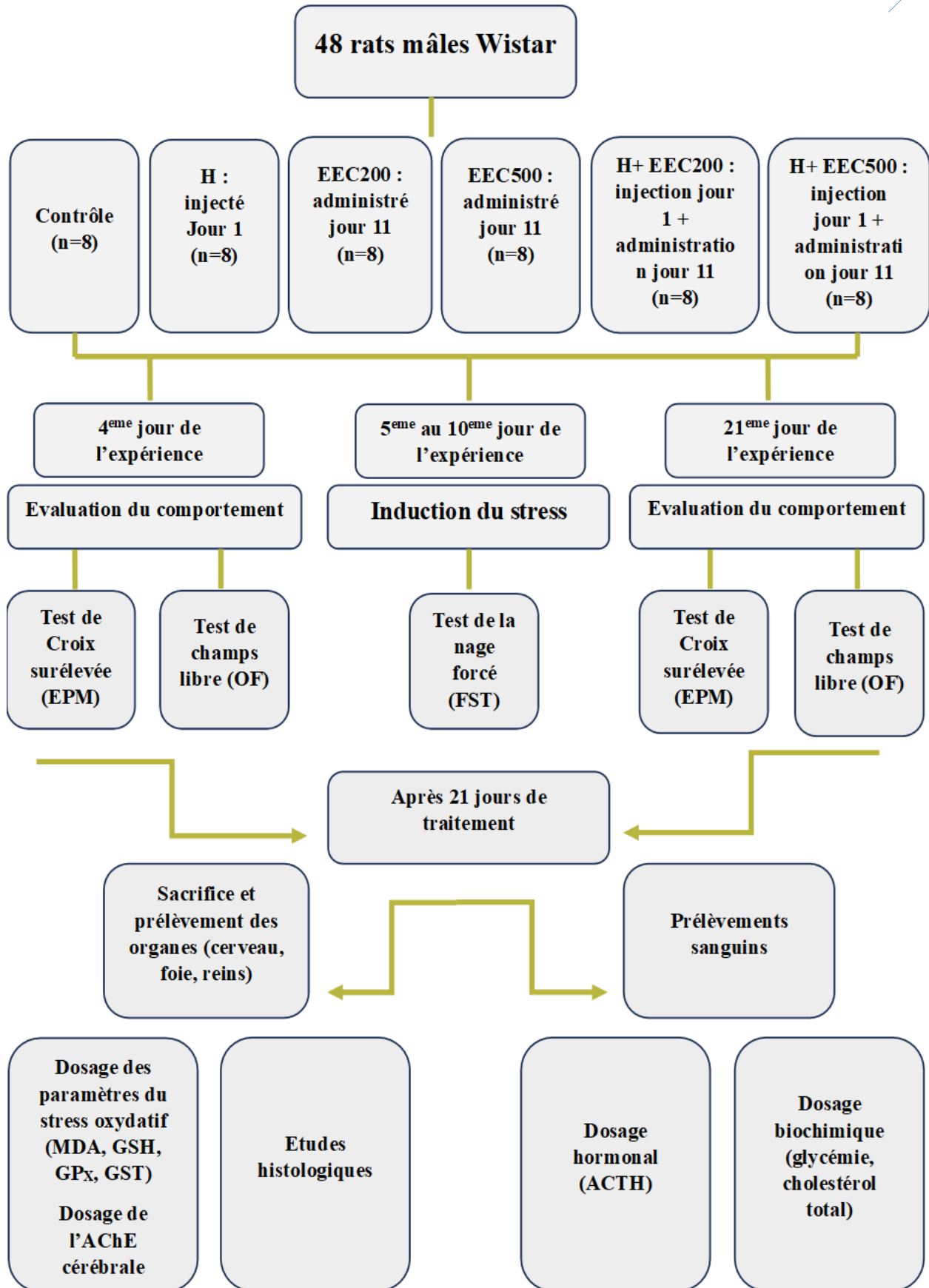


Figure 8. Diagramme récapitulatif du protocole expérimental.

**2.8 Mesure des marqueurs hormonaux et biochimiques**

Les échantillons sanguins ont été soumis à une centrifugation de 10 minutes à 3500 tours par minute. Le sérum ainsi obtenu a été utilisé pour déterminer deux paramètres biochimiques, à savoir le cholestérol total et la glycémie, en utilisant un analyseur commercial (BioSystems S.A., Costa Brava, Espagne). Les niveaux d'hormone adrénocorticotrope (ACTH) ont été quantifiés à l'aide d'un analyseur automatisé du même fabricant (BioSystems S.A., Costa Brava, Espagne).

**2.8.1 Evaluation du taux d'hormone adrénocorticotrope (ACTH)**

<b>Principe</b>	Le dosage immunoradiométrique de l'hormone corticotrope (ACTH) implique une méthode de type "sandwich" utilisant l'ACTH préalablement modifiée chimiquement par une réaction de succinylation (sACTH). <b>(Brossaud et al., 2011).</b>
<b>Réactifs</b>	Tampon acide de sodium ; Enzymes (anticorps monoclonaux anti-sACTH ; Traceur anti-sACTH; Anhydride succinique ; Diméthylsulfoxyde DMSO ; Solution de lavage).
<b>Calcul de la concentration</b>	Calculés au moyen d'un ajustement de courbe spline (pg/mL).

**2.8.2 Taux de glucose sanguin**

<b>Principe</b>	La glucose oxydase (GOD) transforme le glucose en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ). En présence de peroxydase (POD), ce peroxyde d'hydrogène oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) pour former un composé coloré rouge-violet (quinoneimine) <b>(Kaplan, 1984).</b>
<b>Réactifs</b>	Tampon tris 7,4 ; Phénol ; Enzymes (Glucose oxydase GOD ; Peroxydase POD ; 4-Aminophénazone 4-AP) ; Etalon glucose.
<b>Calcul de la concentration</b>	$\text{Taux Glucose (mg/l)} = \frac{\text{Abs échantillon}}{\text{Abs étalon}} \times 100$

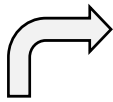
### 2.8.3 Taux de cholestérol total

<b>Principe</b>	Sous l'influence de la cholestérol oxydase, la cholestérol estérase hydrolyse les esters de cholestérol pour produire du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ). La quinoneimine est créée dans les réactions suivantes lorsque le peroxyde d'hydrogène et le phénol se mélangent ( <b>Naito, 1984</b> ).
<b>Réactifs</b>	Tampon 6,9 ; Phénol ; Enzymes (Cholestérol estérase CHE ; Cholestérol oxydase CHOD ; Peroxydase POD ; 4-Aminophénazone 4-AP) ; Etalon cholestérol.
<b>Calcul de la concentration</b>	$\text{Taux Cholestérol (g/l)} = \frac{\text{Abs échantillon}}{\text{Abs étalon}} \times 2$

## 2.9 Analyse de l'état de stress oxydatif

### 2.9.1 Teneur en protéines

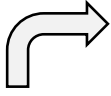
Selon (**Bradford, 1976**), la quantité de protéines dans les organes (cerveau, foie, reins) a été déterminée par spectrophotométrie à 595 nm en utilisant l'albumine sérique bovine comme référence.



- Prélever 0,1 ml de l'homogénat ;
- Incorporer 5 ml de bleu de Coomassie ;
- Agiter et laisser reposer pendant 5 minutes ;
- Mesurer les densités optiques par rapport au blanc à 595 nm ;
- La concentration en protéines est évaluée en comparaison avec un standard de sérum-albumine bovine (1 mg/ml) préparé préalablement dans les mêmes conditions.

### 2.9.2 Détermination du taux tissulaire du malondialdéhyde (MDA)

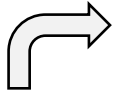
Le degré de peroxydation lipidique (LPO) dans les organes étudiés a été évalué par spectrophotométrie à l'aide de la technique (**Ohkawa et al., 1979**), basée sur la réaction colorée du malondialdéhyde (MDA), le dérivé de la peroxydation lipidique, avec l'acide thiobarbiturique (TBA). L'homogénat de cerveau a été obtenu dans un rapport de 1 :1 0 avec un tampon phosphate froid (0,1 M, pH 7,4) à l'aide d'un broyeur à ultrasons.



- Prélever 0,5 mL de l'homogénat.
- Ajouter 0,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) 20 %.
- Ajouter 1 mL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %.
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 100 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et additionner de 4 mL de n-butanol.
- Centrifuger pendant 15 minutes à 3000 tours/min.
- Récupérer le surnageant, et lire la densité optique à 530 nm contre le blanc.
- La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nM/gramme de tissu (foie ou reins). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1',3,3'-tetraethoxypropane faite dans les mêmes conditions.

### **2.9.3 Dosage du glutathion réduit (GSH)**

En utilisant la méthode colorimétrique de **(Weckbecker, 1988)**, qui est basée sur la réduction de l'acide 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupes (-SH) du glutathion, la teneur en glutathion réduit (GSH) dans le cerveau a été déterminée après avoir homogénéisé 100 mg de tissu cérébral préservé dans 4 ml d'acide éthylènediaminetétraacétique EDTA froid (0,02 M). L'absorbance du complexe coloré du mélange réactionnel a été mesurée à une longueur d'onde de 412 nm. La concentration de GSH a été représentée en nmoles de GSH par mg de protéine.



- Prélever 0,8 mL de l'homogénat.
- Effectuer la déprotéinisation en ajoutant 0,2 mL d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0,25 %.
- Agiter le mélange et laisser reposer pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Procéder à une centrifugation à 1000 tours/min pendant 5 minutes.
- Prélever 0,5 mL du surnageant.
- Ajouter 1 mL du tampon Tris (0,4 M) + EDTA (0,02 M d'EDTA), pH 9,6.
- Effectuer un mélange et ajouter 0,025 mL de DTNB à 0,01 M (préalablement dissous dans le méthanol absolu).
- Laisser reposer pendant 5 minutes à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
- Mesurer les densités optiques à 412 nm par rapport au blanc.
- Les résultats sont exprimés en mmol/ mg de protéines ;

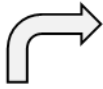
$$GSH [C] = \frac{DO \times L \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéines}}$$

## 2.10 Évaluation de l'activité des enzymes antioxydantes

L'homogénat du cerveau, du foie et des reins a été obtenu par réduction fine de 100 mg de cerveau dans 1 ml de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4) dans des conditions de congélation.

### 2.10.1 Dosage du glutathion peroxydase (GPx)

L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) dans l'homogénat de cerveau a été évaluée selon la procédure de **(Flohé et Günzler, 1984)**. Cette procédure implique la réduction du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence de glutathion réduit (GSH) et la conversion de ce dernier en (GSSG) sous l'influence de la GPx. La réaction a été contrôlée par spectrophotométrie à 340 nm.

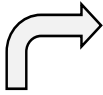


- Prélever 0,2 mL de l'homogénat.
- Ajouter 0,4 mL de GSH (0,1 mM).
- Incorporer 0,2 mL de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4).
- Incuber au bain-marie à 25 °C pendant 5 minutes.
- Ajouter 0,2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1,3 mM) pour initier la réaction et laisser agir pendant 10 minutes.
- Ajouter 1 mL de TCA (1 %) pour stopper la réaction.
- Placer le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- Effectuer une centrifugation pendant 10 minutes à 3000 tours/minute.
- Prélever 0,48 mL du surnageant.
- Ajouter 2,2 mL de la solution tampon TBS.
- Ajouter 0,32 mL de DTNB (1 mM).
- Mélanger et, après 5 minutes, mesurer les densités optiques à 412 nm par rapport au blanc.
- Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{mol GSH/ mg protéines}$  ;

$$GP_x [C] = \frac{(DO \text{ échantillon} - DO \text{ étalon}) \times 0,04 / DO \text{ étalon}}{\text{mg protéine}}$$

### 2.10.2 Dosage du glutathion S-transférase (GST)

L'activité de la glutathion transférase (GST) a été calculée selon la méthode de (**Habig et al., 1974**) en utilisant du 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui se conjugue avec le glutathion pour faire agir les GST contenues dans l'homogénat de l'organe. Les changements de densité optique ont été mesurés à 340 nm sur un intervalle de 30 s pendant 3 minutes. L'activité enzymatique spécifique est exprimée en nmols GSH-CDNB/min/mg de protéines.



- Préparer les tubes ;

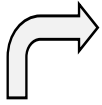
1. Tube blanc : 850 µl Tampon phosphate (0,1 M) pH 6,5), 50 µl CDNB (0,02 M), 100 µl GSH (0,1 M)
2. Tube Essai : 20 µl Homogénat, 830 µl Tampon phosphate (0,1 M) pH 6,5), 50 µl CDNB (0,02 M), 100 µl GSH (0,1 M)

- Agiter les tubes à une température de 37 °C ;
- La variation de la densité optique est mesurée pendant 1 minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm ;
- Les résultats sont exprimés en nmol GSH-CDNB/ mg protéines ;
- Calcul de l'activité spécifique :

$$GST [C] = \frac{DO \text{ échantillon/ min} - DO \text{ blanc/ min}}{9,6 \times \text{mg protéine}}$$

### **2.11 Evaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase cérébrale (AChE)**

La technique de mesure de l'activité enzymatique est celle décrite par (**Ellman et al., 1961**). La méthode est basée sur la réaction entre l'acétylcholinestérase contenue dans la fraction tissulaire et l'acétylthiocholine (ACh) ainsi que sur le développement d'une couleur jaune qui absorbe à 412 nm, en utilisant un tampon phosphate salin PBS (0,1 M, pH 7,4), une solution d'acétylthiocholine et de 5-5'-dithio-bis 2-nitrobenzoate (DTNB), Conformément au protocole ci-dessous :



- Préparer les tubes ;
- ✓ Tube blanc : 1050 µl Tampon phosphate, 50 µl DTNB, 50 µl ACh.
- ✓ Tube Essai : 50 µl Homogénat, 1000 µl Tampon phosphate, 50 µl DTNB, 50 µl ACh.
- Agiter les tubes ;
- Incuber pendant 2,5 minutes à 25 °C dans un bain-marie ;
- La densité optique est lue à intervalles de 25 minutes toutes les 3 minutes à 412 nm par rapport à un blanc ;
- Les résultats sont exprimés en nmol/ mg de protéines ;
- Calcul de l'activité spécifique :

$$AS = \frac{(\Delta DO/min) \times V_t \times 1000}{\epsilon \times L \times V_s \times [protéine]}$$

## 2.12 Examen histopathologique

Les organes fixés (cerveau, foie et reins) ont été déshydratés, inclus dans de la paraffine, coupés en sections de 5 µm d'épaisseur, placés sur des lames et colorés à l'hématoxyline-éosine (Hould, 1984). Un microscope optique (Leica Microsystems CMS GmbH, D-35578, Allemagne) a été utilisé pour inspecter chaque lame et les images ont été prises avec un appareil photo (Leica ICC50 W).

**Tableau 1.** Procédé de coloration de Hould.

Traitement	Durée de traitement
Xylène (1)	2 minutes
Xylène (2)	2 minutes
Alcool absolu	2 minutes
Alcool à 90%	1 minutes
Alcool à 70%	1 minutes
Eau distillée	1 minutes
Hématoxyline	20 minutes

<b>Eau du robinet</b>	3 minutes
<b>Alcool acide de différenciation (1 % d'acide chlorhydrique dans 70 % d'alcool)</b>	10 secondes
<b>Lavage à l'eau du robinet</b>	2 minutes
<b>Lavage à l'alcool à 70 %</b>	2 minutes
<b>Eosine 1 % dans de l'alcool à 70 %</b>	1 minutes
<b>Alcool à 90 %</b>	1 minutes
<b>Alcool absolu (1)</b>	2 minutes
<b>Alcool absolu (2)</b>	2 minutes
<b>Xylène (1)</b>	3 minutes

### **2.13 Analyse des données**

Les données ont été exprimées en moyenne  $\pm$  norme de la moyenne (SEM) et analysées à l'aide d'une analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivie du test de comparaison multiple de Tukey. Les différences statistiquement significatives ont été fixées à 95 % ( $p < 0,05$ ). L'analyse des données et les graphiques ont été réalisés à l'aide du logiciel statistique GraphPad Prism version 9.

En comparaison avec le groupe témoin :

- \*  $p < 0.05$  différence significative
- \*\*  $p < 0.01$  différence très significative
- \*\*\*  $p < 0.001$  différence hautement significative
- \*\*\*\*  $p < 0.01$  différence très hautement significative.

En comparaison avec le groupe H :

- #  $p < 0.05$  différence significative
- ##  $p < 0.01$  différence très significative
- ###  $p < 0.001$  différence hautement significative
- ####  $p < 0.01$  différence très hautement significative.



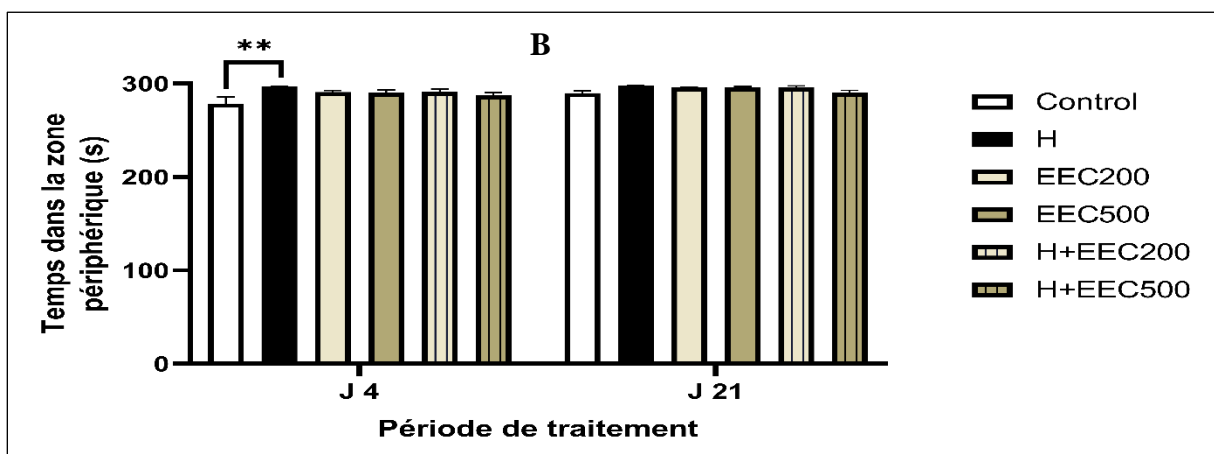
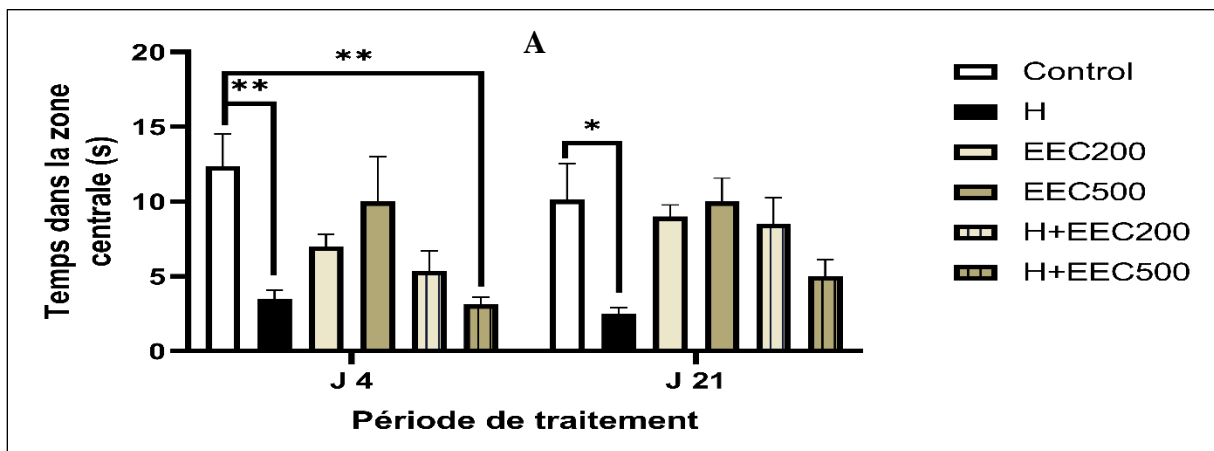
# RÉSULTATS

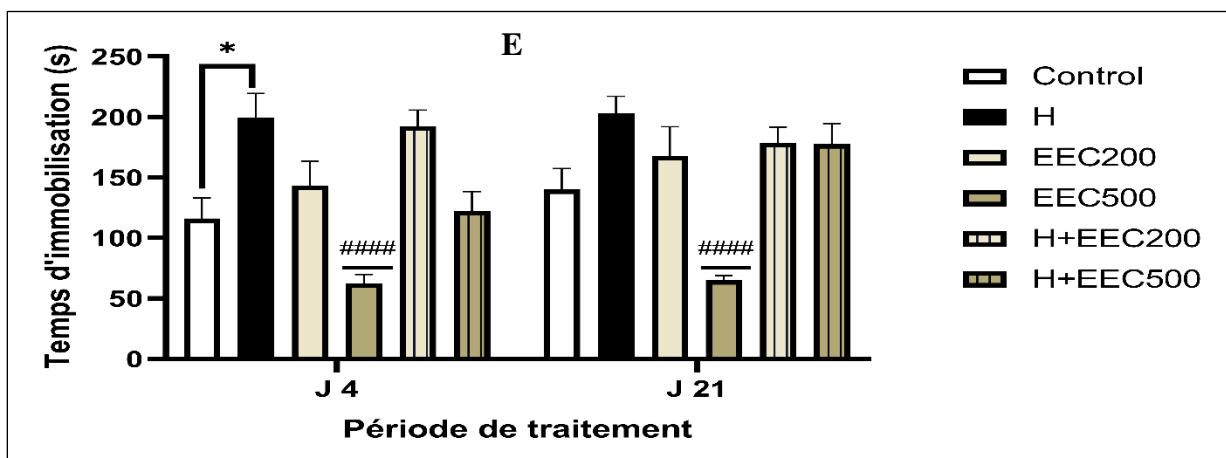
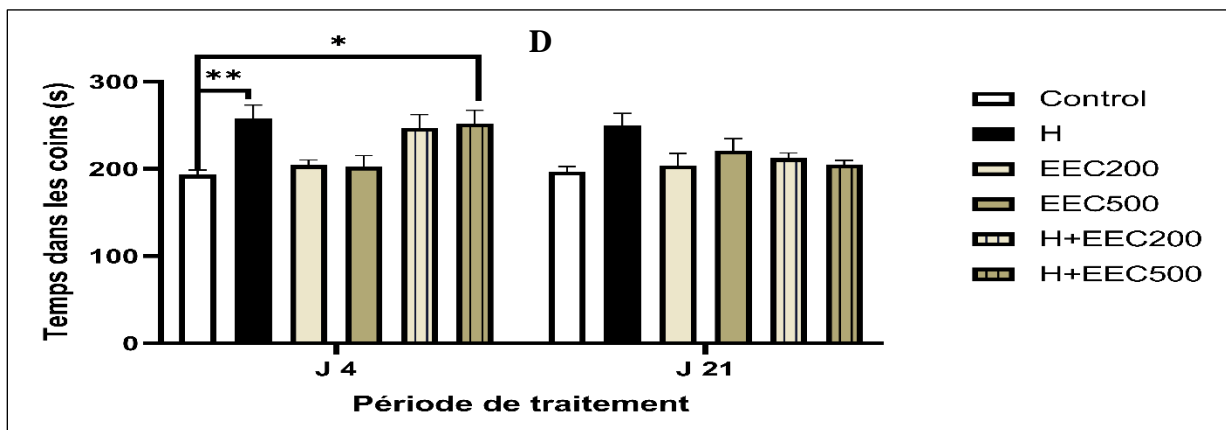
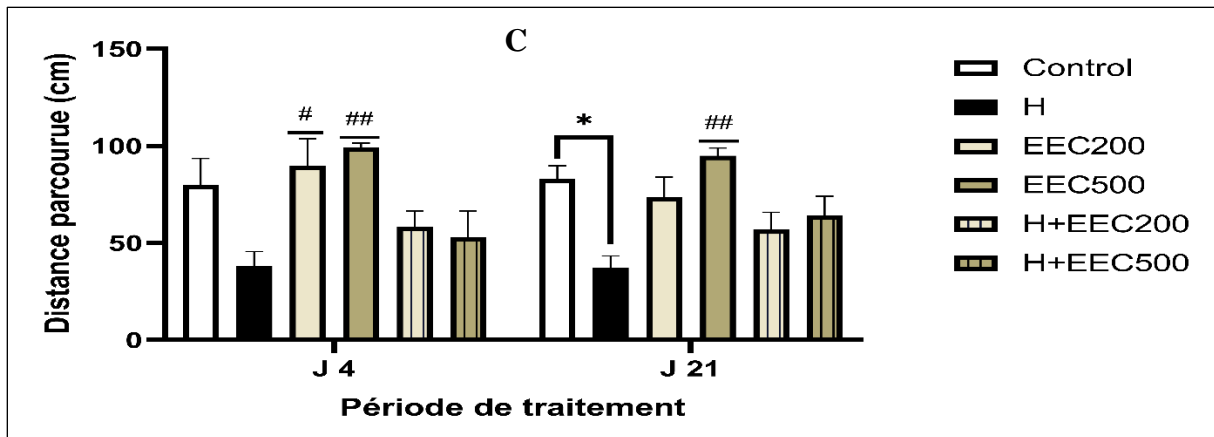
### 3. Résultats

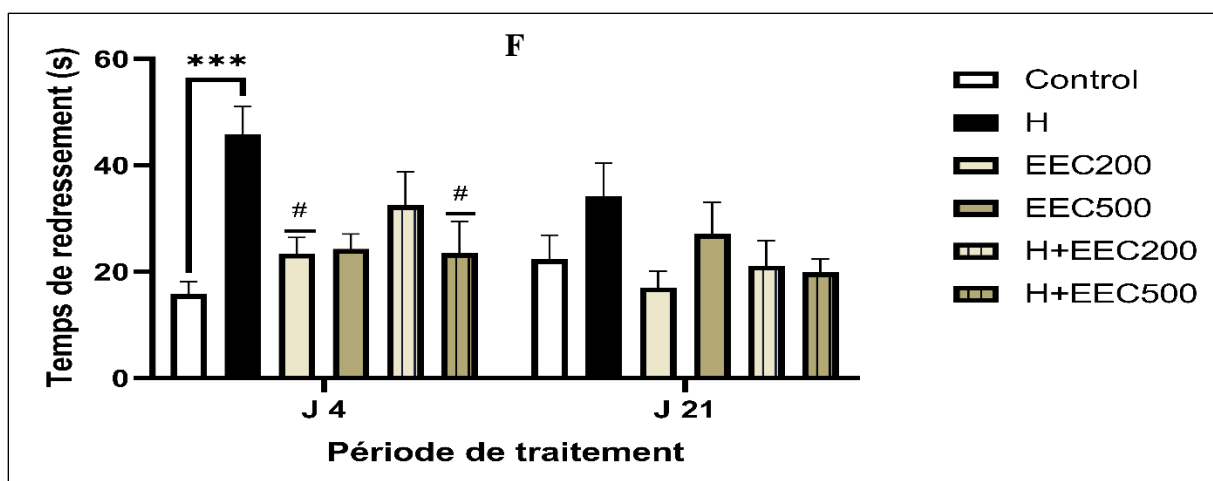
#### 3.1 Effets du traitement sur le comportement anxieux

##### 3.1.1 Test du champ libre (Open Field)

La comparaison entre les deux ensembles de rats, l'un soumis au traitement H et l'autre servant de témoins lors de l'exposition à l'OF, met en évidence des différences significatives dans le temps passé dans la zone centrale. Ces différences sont observées tant avant qu'après l'induction du stress ( $p < 0,01$  et  $p < 0,05$  respectivement). En outre, les résultats obtenus révèlent que les rats traités par H passent considérablement plus de temps dans les coins et en position d'immobilisation (les parties anxiogènes du test) par rapport aux rats témoins, après 4 jours d'injection d'harmine, mais cette différence n'est plus présente au 21e jour (**Figure 9D-E**). La supplémentation des rats traités par H avec l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* élimine complètement ces postures d'immobilisation, quelle que soit la dose étudiée. Parallèlement, on note que les rats traités par H parcourent une distance moindre avec une durée plus élevée de redressement par rapport aux rats témoins. L'administration de l'EEC200 et de l'EEC500 ramène les niveaux de ces paramètres à un niveau équivalent à celui des animaux normaux (**Figure 9C-F**).



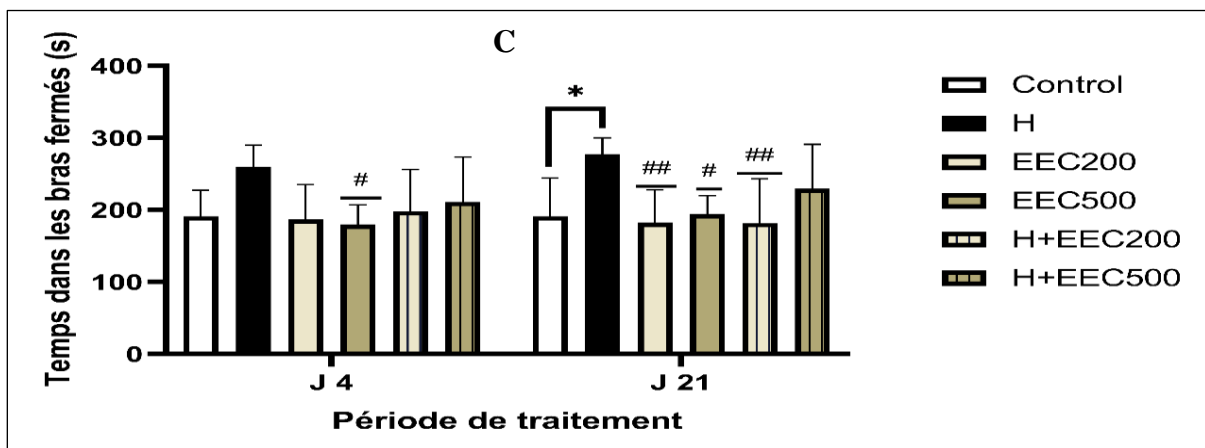
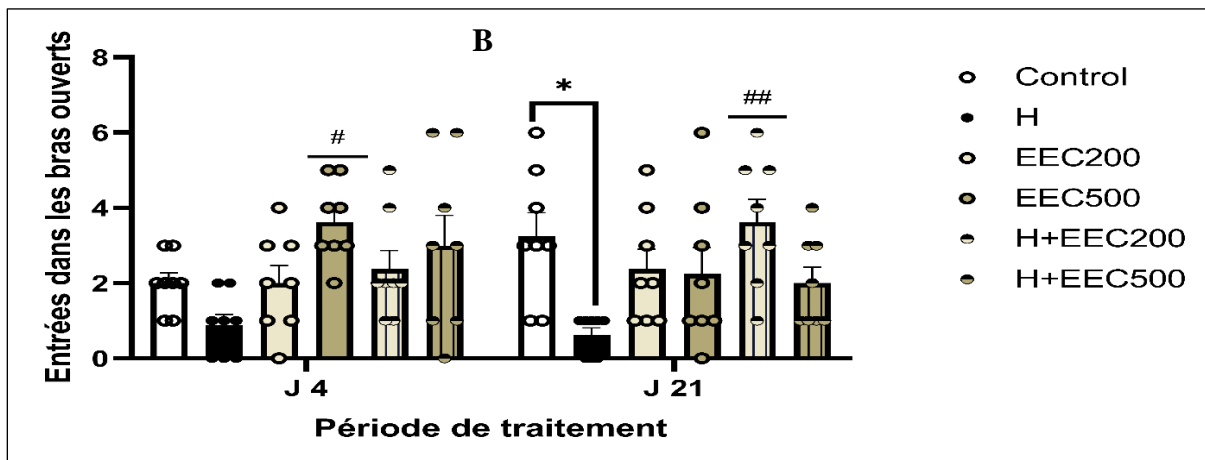
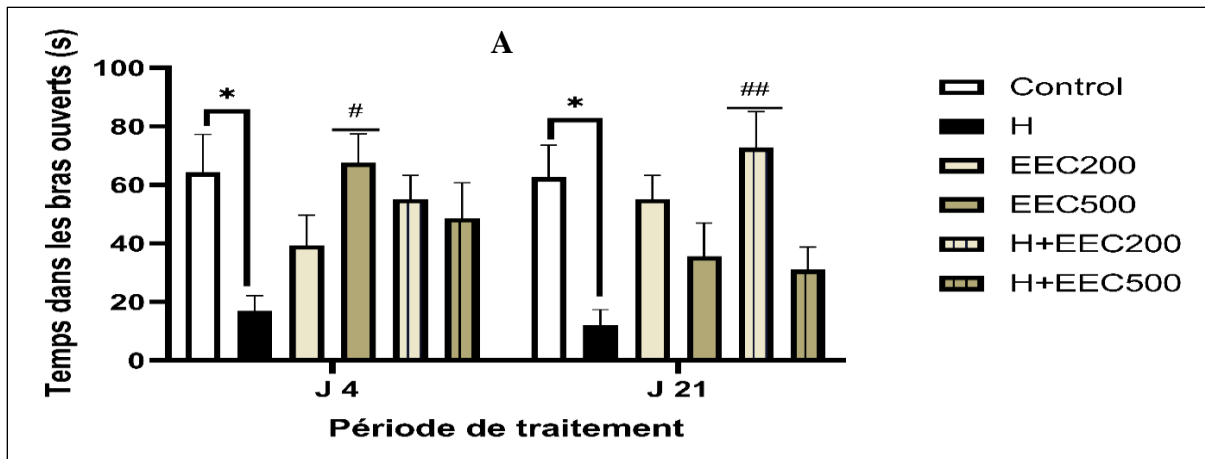


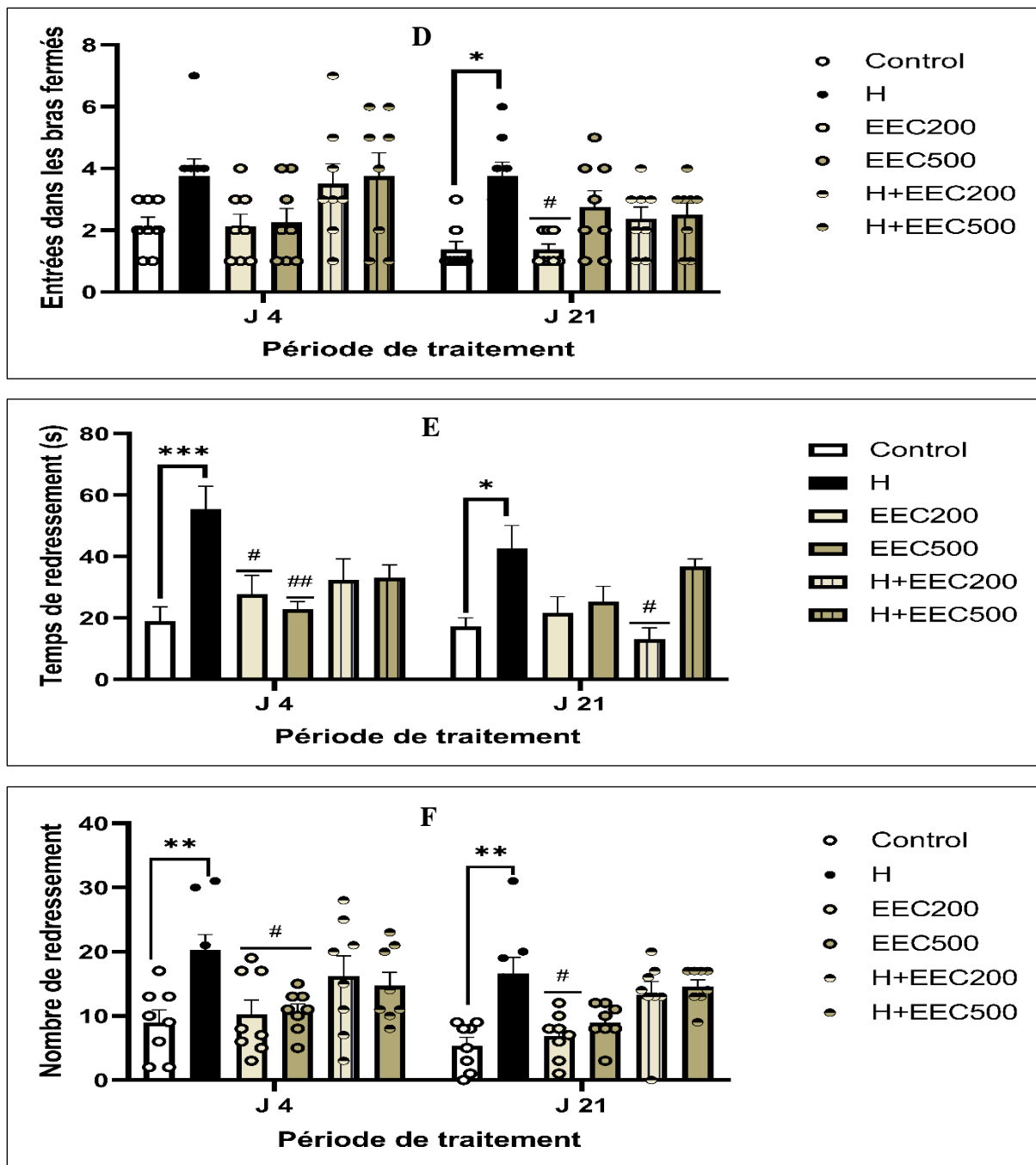


**Figure 9.** Effets de l'expérience des tests sur le comportement dans le labyrinthe en champs ouvert chez les rats ( $n = 8$ ). (A) le temps passé dans la zone centrale (s), (B) le temps passé dans la zone périphérique (s) (C) la distance parcourue (cm), (D) le temps dans les coins, (E) le temps d'immobilisation, (F) le temps de redressement. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  différence significative par rapport au groupe témoins, #  $p < 0.05$ , ##  $p < 0.01$ , ####  $p < 0.0001$  différence significative par rapport au groupe H.

### 3.1.2 Test de croix surélevée (Elevated Plus Maze)

Les analyses statistiques ont révélé une diminution significative ( $p < 0,05$ ) du temps et du nombre d'entrées dans les bras ouverts pour le groupe H par rapport au groupe témoin, tant avant qu'après le stress. L'administration de l'extrait EEC à la dose de 200 mg/kg chez le groupe H a entraîné une amélioration notable, avec une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) par rapport au traitement H (**Figure 10A-B**). On enregistre également une augmentation significative du temps et du nombre d'entrées dans les bras fermés, ainsi qu'une augmentation très hautement significative du temps et du nombre de redressements ( $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  respectivement). Cependant, des variations statistiquement significatives ont également été notées, montrant une réduction du temps et du nombre de ces derniers paramètres chez les rats traités par l'extrait seul ou en combinaison avec H par rapport au traitement H (**Figure 10C-F**).

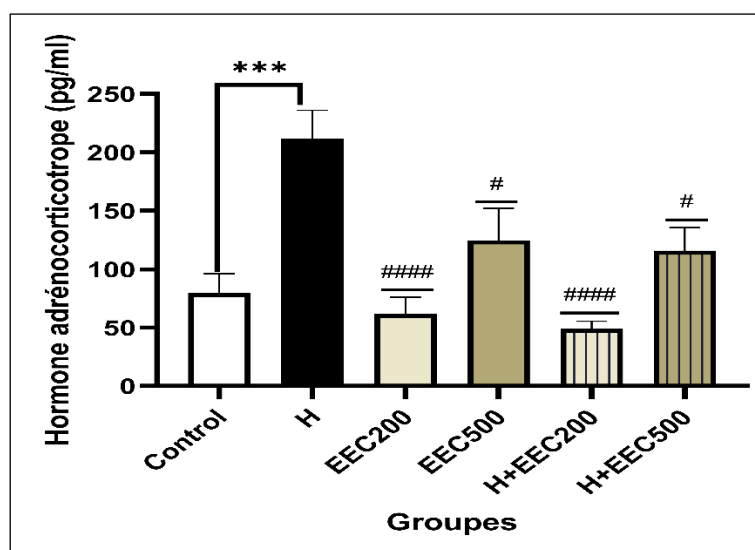




**Figure 10.** Effets de l'expérience des tests sur le comportement dans le labyrinthe en croix surélevé chez les rats ( $n = 8$ ). (A) le temps passé dans les bras ouverts (s), (B) le nombre d'entrées dans les bras ouverts, (C) le temps passé les bras fermés, (D) le nombre d'entrées dans les bras fermés, (E) le temps de redressement, (F) le nombre de redressement. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  différence significative par rapport au groupe témoins, #  $p < 0.05$ , ##  $p < 0.01$  différence significative par rapport au groupe H.

### 3.2 Effets du traitement sur le niveau d'hormone de stress (ACTH)

Les taux d'ACTH du groupe H étaient statistiquement plus élevés (211,98 pg/ml) que ceux du groupe témoin, selon l'analyse hormonale de la **Figure 11**. En revanche, l'administration de 200 mg/kg d'EEC a entraîné des baisses extrêmement significatives (61,75 pg/ml) et (124,90 pg/ml) pour le groupe EEC500 par rapport au groupe H. L'administration conjointe de *M. chamomilla* a considérablement réduit l'augmentation des taux d'ACTH après le traitement à l'harmine ( $p < 0,0001$ ) ; ( $p < 0,05$ ) pour EEC200 et EEC500, respectivement (**Figure 11**).



**Figure 11.** Taux d'hormone adrénocorticotrope dans le sérum des rats témoins et traités après 21 jours. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; \*\*\*  $p < 0,001$  par rapport au groupe témoin ; #  $p < 0,05$ , ####  $p < 0,0001$  par rapport au groupe H.

### 3.3 Effets du traitement sur le poids corporel des rats

Au cours de l'étude, tous les groupes de traitement n'ont montré aucun signe d'intoxication ou de mortalité, à l'exception du groupe harmine (H), qui provoque chez l'animal un décubitus et une incapacité à se tenir debout, suivis de tremblements, d'une respiration rapide et d'une hypersalivation qui dure deux heures après l'injection intrapéritonéale.

Le poids corporel des rats a augmenté de manière non significative après l'administration de l'alcaloïde H par rapport au groupe témoin. Lorsque la EEC a été administrée à une dose de 200 mg/kg, il n'y a pas eu de changements significatifs ( $p > 0,05$ ) par rapport au groupe témoin. Cependant, lorsque ce groupe a été comparé au groupe H, leur poids corporel a diminué de façon très significative. À la dose de 500 mg/kg d'extrait de EEC, cependant, on a noté une augmentation très significative ( $p < 0,01$ ) du poids corporel. Dans le groupe H + EEC500, la co-administration de EEC500 a augmenté le changement de poids corporel

de façon statistiquement très significative ( $p < 0,01$ ) par rapport au groupe témoin (**Tableau 2**).

Le gain de poids dans le groupe H n'était pas statistiquement significatif par rapport au groupe témoin ( $p = 0,064$ ). En revanche, les groupes EEC500 et combiné ont montré des augmentations hautement significatives (+ 68,12 ; + 70,25 ; + 59,37), respectivement, par rapport au groupe témoin, à l'exception de la dose d'extrait de 200 mg/kg, qui a montré un niveau inférieur par rapport au groupe harmine (**Tableau 2**).

**Tableau 2.** Changements dans le poids corporel total et le gain de poids sur une période de 21 jours.

Parameters	Contrôle	H	EEC200	EEC500	H+ EEC200	H+ EEC500
<b>Poids initial (g)</b>	261,75 ± 3,17	243,37 ± 1,41	254,62 ± 1,48	244,37 ± 2,42	239,75 ± 0,79	238 ± 1,6
<b>Poids final (g)</b>	278,12 ± 3,02	291,87 ± 11,39	257,62 ± 4,07 <sup>##</sup>	312,5 ± 8,05 <sup>**</sup>	315,25 ± 11,74 <sup>**</sup>	297,37 ± 6,4
<b>Prise de poids (g)</b>	16,37 ± 1,73	48,5 ± 11,04	7,75 ± 1,92 <sup>##</sup>	68,12 ± 6,93 <sup>***</sup>	70,25 ± 12,66 <sup>***</sup>	59,37 ± 6 <sup>**</sup>

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n = 8 dans chaque groupe.

\*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001 différence significative par rapport au groupe de contrôle.

## p < 0.01 différence significative par rapport au groupe H.

### 3.4 Effets du traitement sur le poids absolu et relatif des organes

Le traitement à l'harmine a montré que le poids du foie des rats traités a augmenté de façon absolue et relative (+ 2,42 g ; + 0,67 g) de façon significative par rapport aux rats témoins. Comme pour le contrôle, l'extrait à 500 mg/kg a également montré une augmentation notable. Le poids relatif du foie du groupe combiné était considérablement plus faible ( $p < 0,01$ ) que celui du groupe H lors de l'administration concomitante de 500 mg/kg d'extrait (**Tableau 3**).

Des augmentations significatives des poids absolus et relatifs ont été observées dans l'indice rénal dans les différents groupes traités à l'harmine. L'administration de l'extrait seul a cependant entraîné des valeurs significativement plus faibles ( $p < 0,01$  ;  $p < 0,05$ ) pour les poids absolus et relatifs respectivement, par rapport au groupe H seul (**Tableau 3**). Le traitement combiné avec 500 mg/kg d'extrait (H + EEC500) a été associé à une diminution considérable du poids relatif du cerveau (- 0,09 g) ; aucun changement perceptible n'a été observé dans le poids absolu du cerveau. Tout au long de l'étude, le poids absolu ou relatif des glandes surrénales d'aucun groupe de traitement n'a montré de variation statistiquement significative (**Tableau 3**).

**Tableau 3.** Mesures et variations du poids des organes chez les rats témoins et expérimentaux au cours de l'étude.

Parameters	Contrôle	H	EEC200	EEC500	H+ EEC200	H+ EEC500
Poids absolu du foie (g)	8,69 ± 0,39	11,11 ± 0,6**	8,81 ± 0,27##	10,66 ± 0,35*	11,19 ± 0,32***	9,55 ± 0,3
Poids relatif du foie (g/100g)	3,12 ± 0,13	3,8 ± 0,09**	3,42 ± 0,11	3,41 ± 0,05	3,59 ± 0,17	3,21 ± 0,07##
Poids absolu des reins (g)	1,33 ± 0,04	1,86 ± 0,16**	1,31 ± 0,03##	1,68 ± 0,08	1,87 ± 0,06**	1,78 ± 0,06**
Poids relatif des reins (g/100g)	0,48 ± 0,01	0,63 ± 0,03***	0,51 ± 0,01#	0,53 ± 0,01	0,60 ± 0,03*	0,60 ± 0,01*
Poids absolu du cerveau (g)	1,54 ± 0,08	1,45 ± 0,04	1,29 ± 0,04	1,55 ± 0,05	1,55 ± 0,02	1,38 ± 0,08
Poids relatif du cerveau (g/100g)	0,55 ± 0,03	0,50 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,46 ± 0,02*
Poids absolu des surrénales (g)	0,04	0,04 ± 0,004	0,04 ± 0,001	0,03 ± 0,004	0,04 ± 0,004	0,03 ± 0,001
Poids relatif des surrénales (g/100g)	0,014 ± 0,0002	0,014 ± 0,0014	0,016 ± 0,0005	0,012 ± 0,0012	0,013 ± 0,0015	0,013 ± 0,0006

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n = 8 dans chaque groupe.

\* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001 différence significative par rapport au groupe de contrôle.

# p < 0.05, ## p < 0.01 différence significative par rapport au groupe H.

### 3.5 Effets du traitement sur le bilan énergétique

Comme le montre le **Tableau 3**, le groupe H a provoqué une augmentation non significative de la glycémie par rapport aux rats témoins. En revanche, l'administration simultanée de 200 et 500 mg/kg de EEC aux rats H a atténué ces différences de façon très significative (p < 0,001 ; p < 0,0001) respectivement, par rapport au groupe H (**Figure 12A**).

Les taux de cholestérol sanguin total (**Tableau 4 ; Figure 12B**) dans le groupe H ne présentaient pas de signification statistique, alors que l'administration orale de l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* aux deux dosages et en combinaison avec l'harmine (H) a montré des réductions extrêmement significatives des taux de cholestérol par rapport au groupe de contrôle.

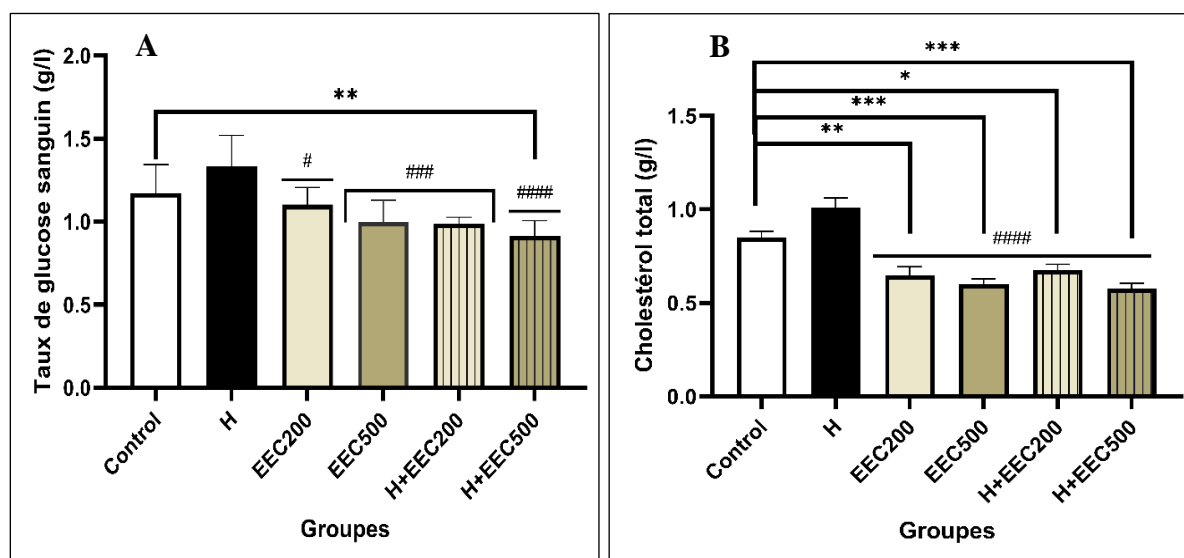
**Tableau 4.** Changements dans les marqueurs métaboliques chez les rats de différents groupes sur une période de 21 jours.

Paramètres	Contrôle	H	EEC200	EEC500	H+ EEC200	H+ EEC500
Glycémie (g/l)	1,17 ± 0,06	1,33 ± 0,06	1,1 ± 0,03 <sup>#</sup>	0,99 ± 0,04 <sup>###</sup>	0,98 ± 0,03 <sup>####</sup>	0,91 ± 0,03 <sup>#####</sup>
Cholestérol (g/l)	0,84 ± 0,03	1 ± 0,05	0,64 ± 0,04 <sup>#####</sup>	0,59 ± 0,03 <sup>#####</sup>	0,67 ± 0,03 <sup>####</sup>	0,57 ± 0,02 <sup>#####</sup>

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n = 8 dans chaque groupe.

\* p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 différence significative par rapport au groupe de contrôle.

<sup>#</sup> p < 0,05, <sup>###</sup> p < 0,001, <sup>####</sup> p < 0,0001 différence significative par rapport au groupe H.



**Figure 12.** Effet de l'harmine et de l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* sur (A) la glycémie et (B) le taux de cholestérol après 21 jours. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM ; \* p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 par rapport au groupe témoin ; <sup>#</sup> p < 0,05, <sup>###</sup> p < 0,001, <sup>####</sup> p < 0,0001 par rapport au groupe H.

### 3.6 Effets du traitement sur la fonction cérébrale

#### 3.6.1 Effets du traitement sur la peroxydation lipidique (LPO) et les niveaux de glutathion réduit (GSH) dans le cerveau des rats

Les niveaux de MDA cérébrale chez les rats traités à le H ont montré une augmentation très significative (p < 0,001) par rapport aux rats du groupe témoin. Une valeur comparable à celle des témoins a été obtenue par l'administration d'EEC200 et d'EEC500. D'autre part, en comparant la combinaison H + EEC200 et H + EEC500 avec le groupe H, une diminution très significative a été observée (p < 0,001) (**Tableau 5, Figure 13**).

Le **Tableau 5** montre une diminution très remarquable des niveaux de GSH (p < 0,001) dans le groupe H par rapport au groupe témoin. Une augmentation très significative a été observée dans le groupe EEC200 par rapport au groupe H. D'autre part, une augmentation du niveau de GSH a été enregistrée dans les groupes extraits et injectés (H + EEC) avec

une valeur de ( $p < 0,01$ ) par rapport au groupe H (**Figure 13**).

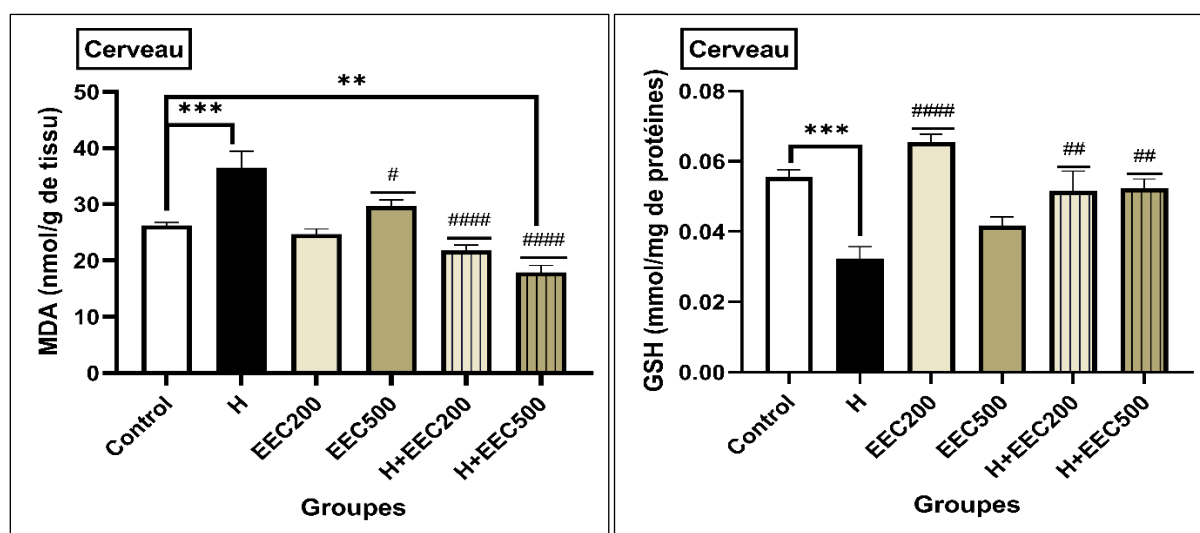
**Tableau 5.** Taux de malondialdéhyde et de glutathion réduit dans le cerveau sur une période de 21 jours chez le groupe témoin (C) et les rats traités (H ; EEC ; H + EEC).

Paramètres	Contrôle	H	EEC200	EEC500	H+ EEC200	H+ EEC500
MDA (nmol/g tissu)	26,22 ± 0,57	36,53 ± 2,9 ***	24,7 ± 0,88	29,71 ± 1,04 <sup>#</sup>	21,85 ± 0,89 <sup>####</sup>	17,89 ± 1,24 *#####
GSH (mmol/mg protéines)	0,05 ± 0,002	0,03 ± 0,003 ***	0,06 ± 0,002 <sup>####</sup>	0,04 ± 0,002	0,05 ± 0,006 <sup>##</sup>	0,05 ± 0,003 <sup>##</sup>

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n = 8 dans chaque groupe.

\*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001 différence significative par rapport au groupe de contrôle.

# p < 0.05, ## p < 0.01, #### p < 0.0001 différence significative par rapport au groupe H.



**Figure 13.** Effet de l'harmine et de l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* sur les niveaux de MDA et de GSH dans le cerveau après 21 jours. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM ; \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 par rapport au groupe témoin ; # p < 0,05, ## p < 0,01, #### p < 0,0001 par rapport au groupe H.

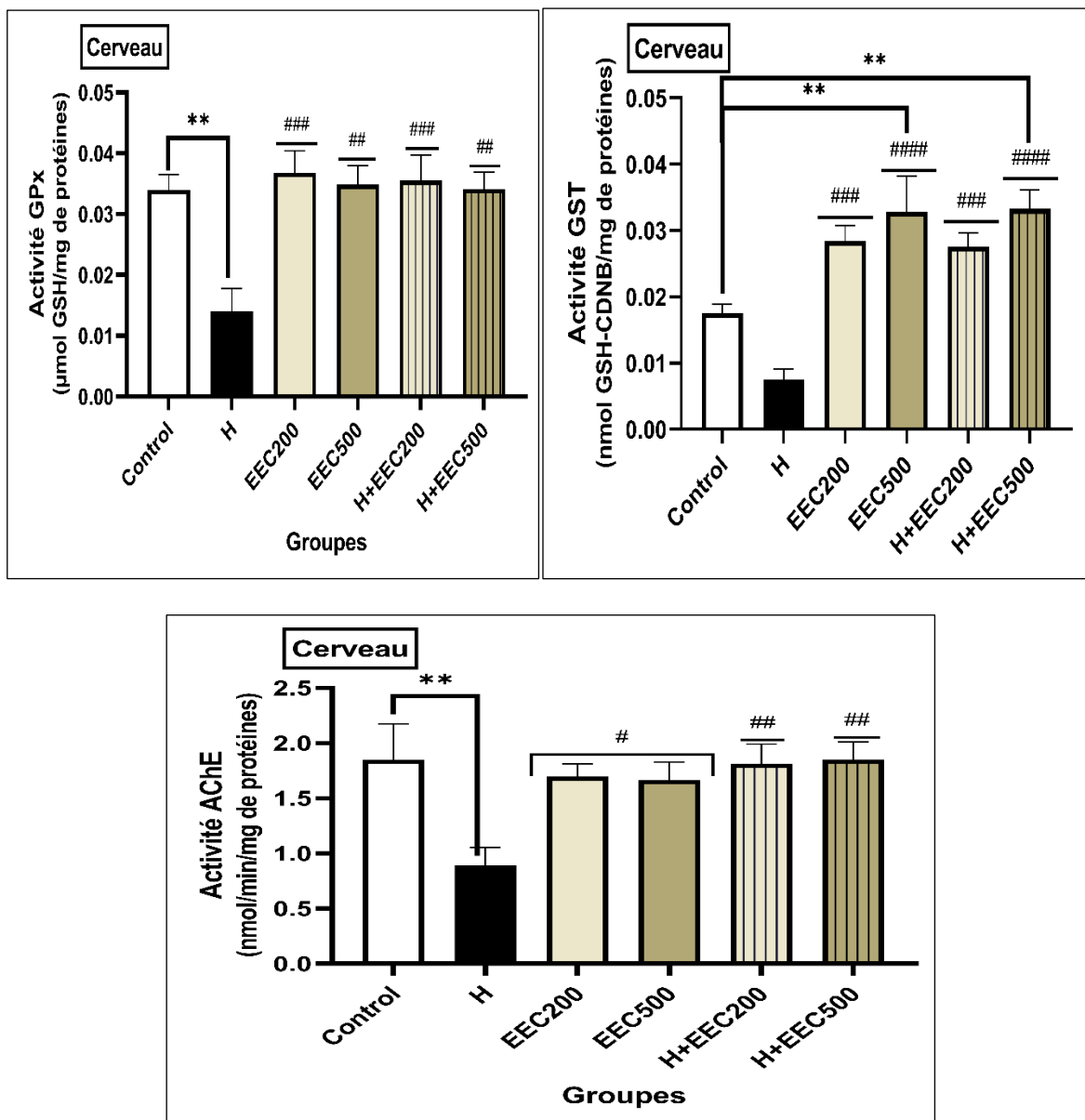
### 3.6.2 Activité de l'AChE dans le cerveau et effets du traitement sur les activités des enzymes antioxydantes

Le traitement à l'harmine (H) a entraîné une diminution ( $p < 0,01$ ) de l'activité de la GPx par rapport au groupe témoin. Cependant, lorsque l'EEC200 et l'EEC500 ont été administrés, seuls ou en conjonction avec le H, cette différence a été améliorée, montrant une augmentation par rapport au groupe témoin et une amélioration hautement significative par rapport au groupe H (**Figure 14**).

La **figure 14** démontre également l'activation de la GST ; le traitement avec H n'a produit

aucun changement statistiquement significatif, tandis que les groupes EEC500 et H + EEC500 ont montré des augmentations statistiquement significatives par rapport au groupe témoin ( $p < 0,01$ ) et au groupe H ( $p < 0,0001$ ). En outre, il y a eu une augmentation par rapport au groupe H à 200 mg/kg d'extrait.

Par rapport au lot témoin, les rats recevant H présentaient un niveau d'activité AChE considérablement réduit ( $p < 0,01$ ) ; cependant, l'ajout d'extrait de *M. chamomilla* a atténué cette baisse et a montré une augmentation dans les deux groupes par rapport au lot H (Figure 14).



**Figure 14.** Réponse de l'activité l'acétylcholinestérase (AChE) chez les rats témoins et traités après 21 jours. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; \*\*  $p < 0,01$  par rapport au groupe témoin ; #  $p < 0,05$ , ##  $p < 0,01$  par rapport au groupe H.

### 3.7 Effets du traitement sur la fonction hépatique

#### 3.7.1 Effets du traitement sur la peroxydation lipidique (LPO) et les niveaux de glutathion réduit (GSH) du foie

Les résultats concernant les niveaux de MDA hépatique chez les rats traités avec H montrent une augmentation considérable ( $p < 0,001$ ), mais l'ajout des doses d'extrait seules ou en combinaison avec H a entraîné des réductions extrêmement significatives par rapport aux lots témoin et H (**Tableau 6, Figure 15**). Le groupe supplémenté avec 200 mg/kg d'extrait a eu une diminution statistiquement significative par rapport au lot H avec ( $p < 0,001$ ), mais le groupe H + EEC500 a affiché un niveau similaire au témoin 25,12 nmol/g).

Les niveaux réduits de glutathion (GSH) étaient beaucoup plus faibles après le traitement avec H que dans le groupe témoin ( $p < 0,001$ ). Par rapport au groupe H, le groupe H + EEC500 a atténué cette baisse (+ 0,04 mmol/mg). Lorsque l'on compare le groupe EEC500 au groupe H, on observe également une augmentation assez significative (**Figure 15**).

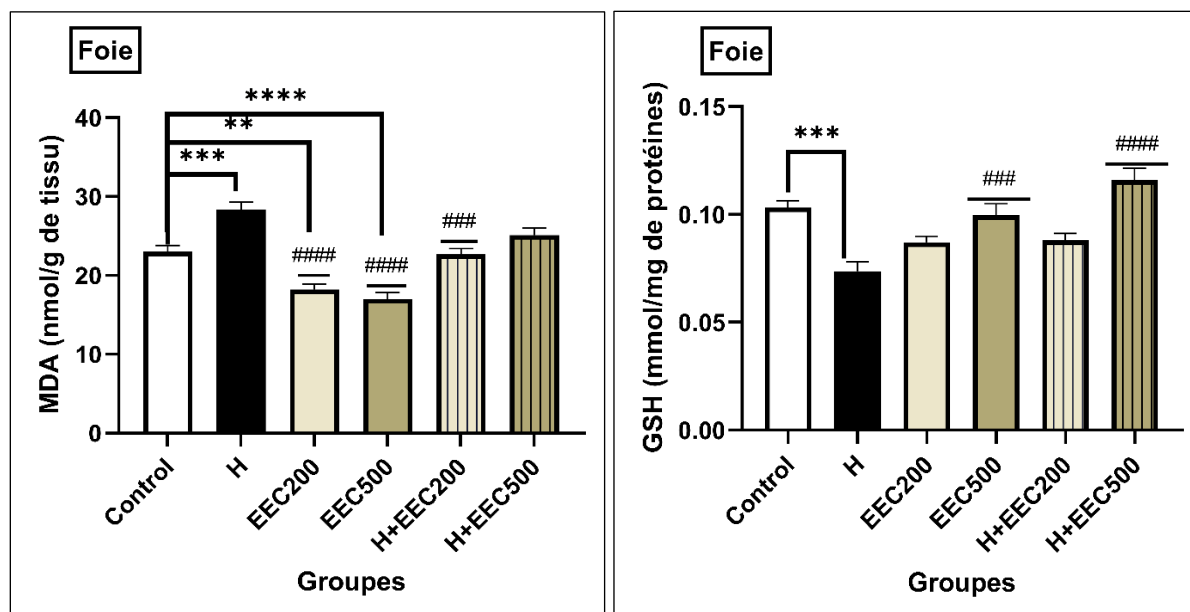
**Tableau 6.** Niveaux de malondialdéhyde et de glutathion réduit dans le foie sur une période de 21 jours dans le foie de rats témoins et traités.

Paramètres	Contrôle	H	EEC200	EEC500	H+ EEC200	H+ EEC500
<b>MDA (nmol/g tissu)</b>	23,05 ± 0,73	28,37 ± 0,92 <sup>***</sup>	18,21 ± 0,66 <sup>**####</sup>	17,03 ± 0,77 <sup>****####</sup>	22,68 ± 0,74 <sup>###</sup>	25,12 ± 0,88
<b>GSH (mmol/mg protéines)</b>	0,10 ± 0,003	0,07 ± 0,005 <sup>***</sup>	0,08 ± 0,003	0,10 ± 0,005 <sup>###</sup>	0,08 ± 0,003	0,11 ± 0,005 <sup>####</sup>

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n = 8 dans chaque groupe.

\*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001, \*\*\*\* p < 0.0001 différence significative par rapport au groupe de contrôle.

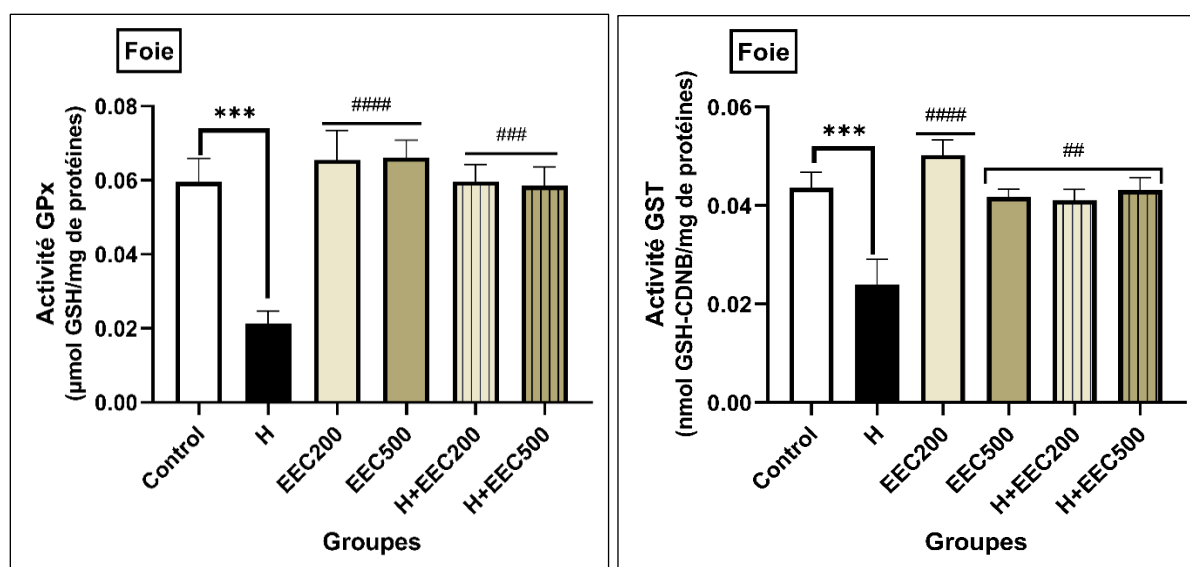
### p < 0.001, #### p < 0.0001 différence significative par rapport au groupe H.



**Figure 15.** Effet de l'harmine et de l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* sur les niveaux de MDA et de GSH dans le foie après 21 jours. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$  par rapport au groupe témoin ; ###  $p < 0,001$ , ####  $p < 0,0001$  par rapport au groupe H.

### 3.7.2 Effets du traitement sur les enzymes antioxydantes hépatiques

Dans le groupe H, l'activité des enzymes GPx et GST était considérablement plus faible ( $p < 0,001$ ) que dans le groupe témoin (**Figure 16**). Dans les groupes H + EEC200 et H + EEC500, l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* a considérablement augmenté ( $p < 0,001$ ) l'activité enzymatique de la GPx. En outre, par rapport au groupe H, l'administration conjointe de 200 et 500 mg/kg aux rats H a fait augmenter l'activité enzymatique de la GST ( $0,04 \pm 0,002$  vs  $0,02 \pm 0,005$ ).



**Figure 16.** Réponse de l'activité des enzymes antioxydantes hépatiques (GPx, GST) chez les rats témoins et traités après 21 jours. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; \*\*\* p < 0,001 par rapport au groupe témoin ; ## p < 0,01, ### p < 0,001, #### p < 0,0001 par rapport au groupe H.

### 3.8 Effets du traitement sur la fonction rénale

#### 3.8.1 Effets du traitement sur les niveaux de peroxydation lipidique (LPO) et de glutathion réduit (GSH) dans les reins

Bien que les données concernant les niveaux de MDA rénale chez les rats traités avec H indiquent une augmentation très significative (p < 0,01), l'administration de 200 mg/kg d'extrait de *M. chamomilla* a entraîné une valeur très basse par rapport au groupe H. En comparant la combinaison H + EEC200 au groupe H, on a constaté une baisse très significative qui se situait à un niveau comparable à celui du groupe témoin (**Tableau 7, Figure 17**).

La différence dans les niveaux de glutathion réduit (GSH) est également visible dans le **Tableau 7**. Par rapport aux rats témoins, les animaux ayant reçu de le H ont présenté un niveau faible statistiquement significatif (p < 0,01). Cependant, une amélioration a été observée dans le lot traité avec 500 mg/kg d'EEC (p < 0,05). Des différences significatives ont également été observées entre les groupes ayant reçu l'extrait seul ou en association avec H, contrairement au groupe H (**Figure 17**).

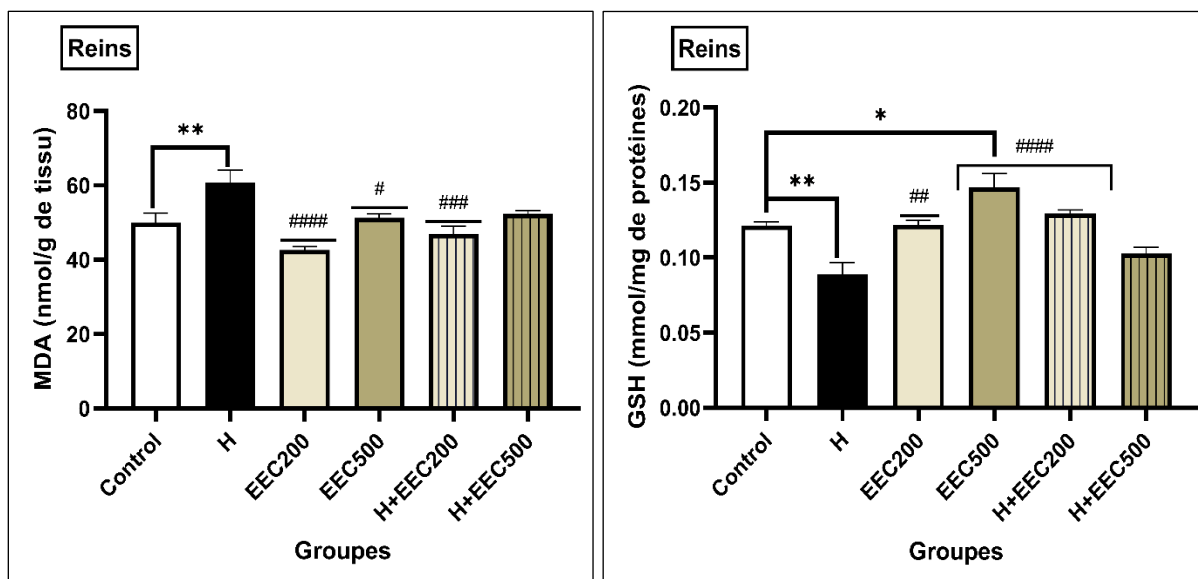
**Tableau 7.** Taux de malondialdéhyde et de glutathion réduit dans les reins sur une période de 21 jours chez le groupe témoin (C) et les rats traités (H ; EEC ; H + EEC).

Paramètres	Contrôle	H	EEC200	EEC500	H+ EEC200	H+ EEC500
MDA (nmol/g tissu)	49,93 $\pm$ 2,58	60,80 $\pm$ 3,33**	42,62 $\pm$ 0,89####	51,20 $\pm$ 1,11#	46,94 $\pm$ 2,12###	52,39 $\pm$ 0,79
GSH (mmol/mg protéines)	0.12 $\pm$ 0.002	0.08 $\pm$ 0.008**	0.12 $\pm$ 0.003##	0.147 $\pm$ 0.009*####	0,12 $\pm$ 0,002####	0,10 $\pm$ 0,004

Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM, n = 8 dans chaque groupe.

\* p < 0.05, \*\* p < 0.01 différence significative par rapport au groupe de contrôle.

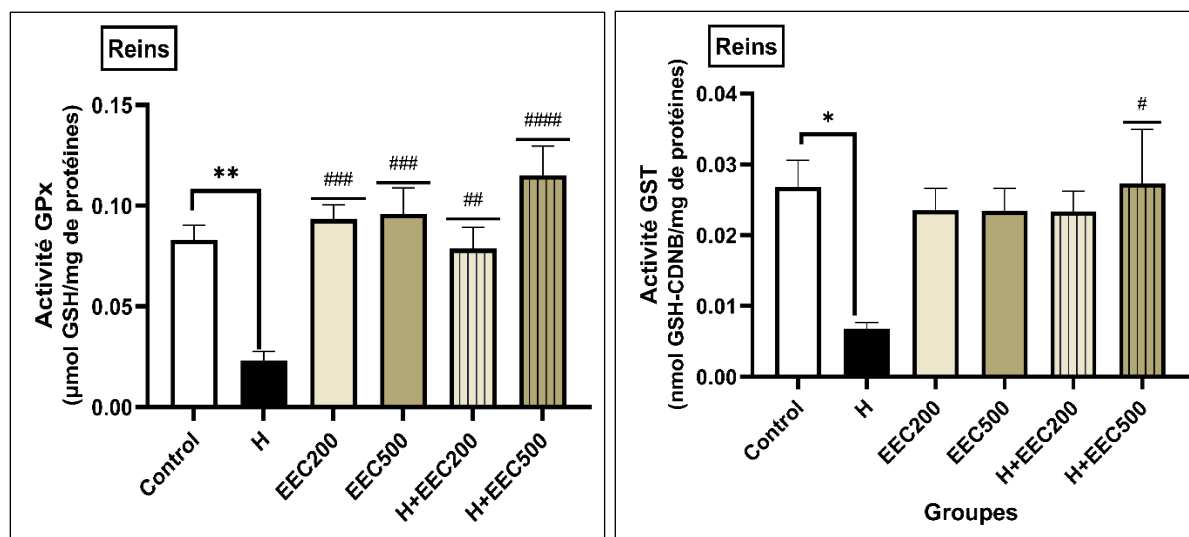
## p < 0.01, ### p < 0.001, #### p < 0.0001 différence significative par rapport au groupe H.



**Figure 17.** Effet de l'harmine et de l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* sur les niveaux de MDA et de GSH dans les reins après 21 jours. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  par rapport au groupe témoin ; #  $p < 0,05$ , ##  $p < 0,01$ , ###  $p < 0,001$ , ####  $p < 0,0001$  par rapport au groupe H.

### 3.8.2 Effets du traitement sur les enzymes antioxydantes rénales

L'activité de la GPx était significativement moins importante ( $p < 0,01$ ) dans le groupe de rats recevant l'extrait H que dans le groupe témoin. D'autre part, les rats recevant les extraits EEC200 et EEC500 ont montré des niveaux non significativement accrus ( $p < 0,001$ ) par rapport au groupe témoin, mais significativement plus élevés que le groupe H. De même, par rapport au groupe H, les groupes combinés ont montré des niveaux accrus d'activité GPx. De même, par rapport au groupe H, les groupes combinés ont montré des niveaux accrus d'activité GPx. L'extrait de *M. chamomilla* n'a révélé aucune variation perceptible de l'activité de la GST, contrairement au groupe H, qui a montré une diminution marquée par rapport au groupe témoin.

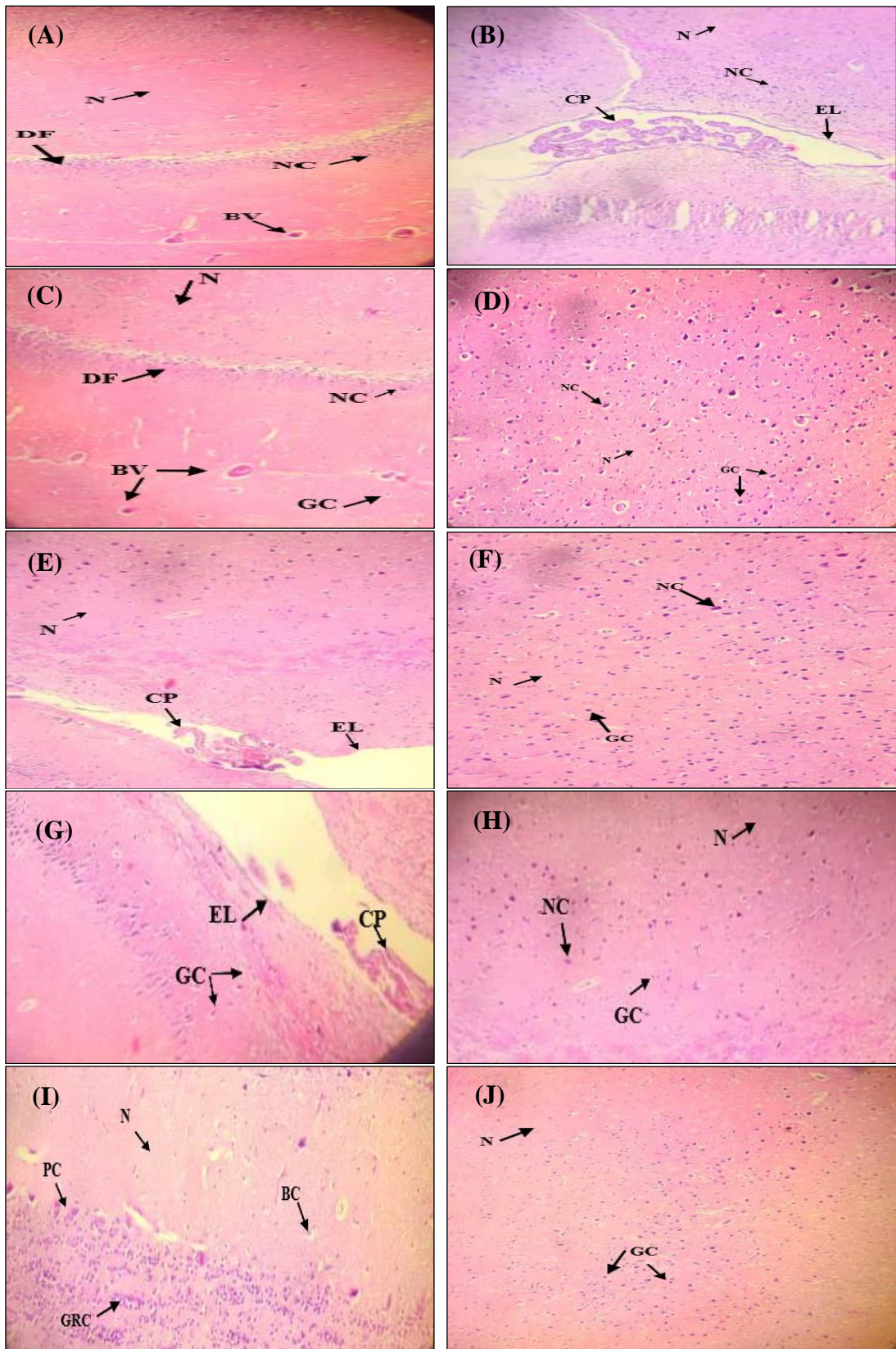


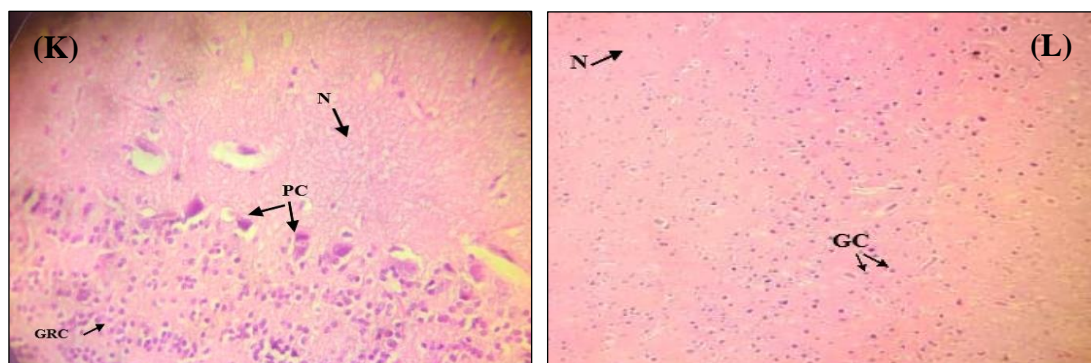
**Figure 18.** Réponse de l'activité des enzymes antioxydantes rénales (GPx, GST) chez les rats témoins et traités après 21 jours. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  par rapport au groupe témoin ; #  $p < 0,05$ , ##  $p < 0,01$ , ###  $p < 0,001$ , ####  $p < 0,0001$  par rapport au groupe H.

### 3.9 Analyse histologique

#### 3.9.1 Effets du traitement sur l'architecture du cerveau

La structure de l'hippocampe du groupe de rats H est comparable à celle du groupe témoin : elle présente une morphologie similaire de fascia denté riche en cellules nerveuses de taille normale, et des globules rouges libres et des boues simples sont visibles (**Figure 19A, C**). Des neurones de taille normale et des cellules gliales composent la structure du cortex cérébral, comme le montre la **Figure 19D**. L'anatomie typique du ventricule latéral dans le groupe témoin est illustrée dans la **Figure 19B**. Les groupes traités uniquement avec les extraits EEC200 et EEC500 présentent un plexus choroïde typique avec une couche épithéliale autour d'un stroma de vaisseaux sanguins et les cellules épendymaires qui tapissent les ventricules sont clairement visibles (**Figure 19E-H**). Les groupes combinés des deux doses différentes de EEC montrent un fragment de cervelet avec une couche de grands neurones saillants en forme de poire (cellules de Purkinje dans le cervelet) et de neurones de taille moyenne (cellules en panier). En outre, les cellules granules, ou petits interneurons, semblent normales (**Figure 19I-L**).

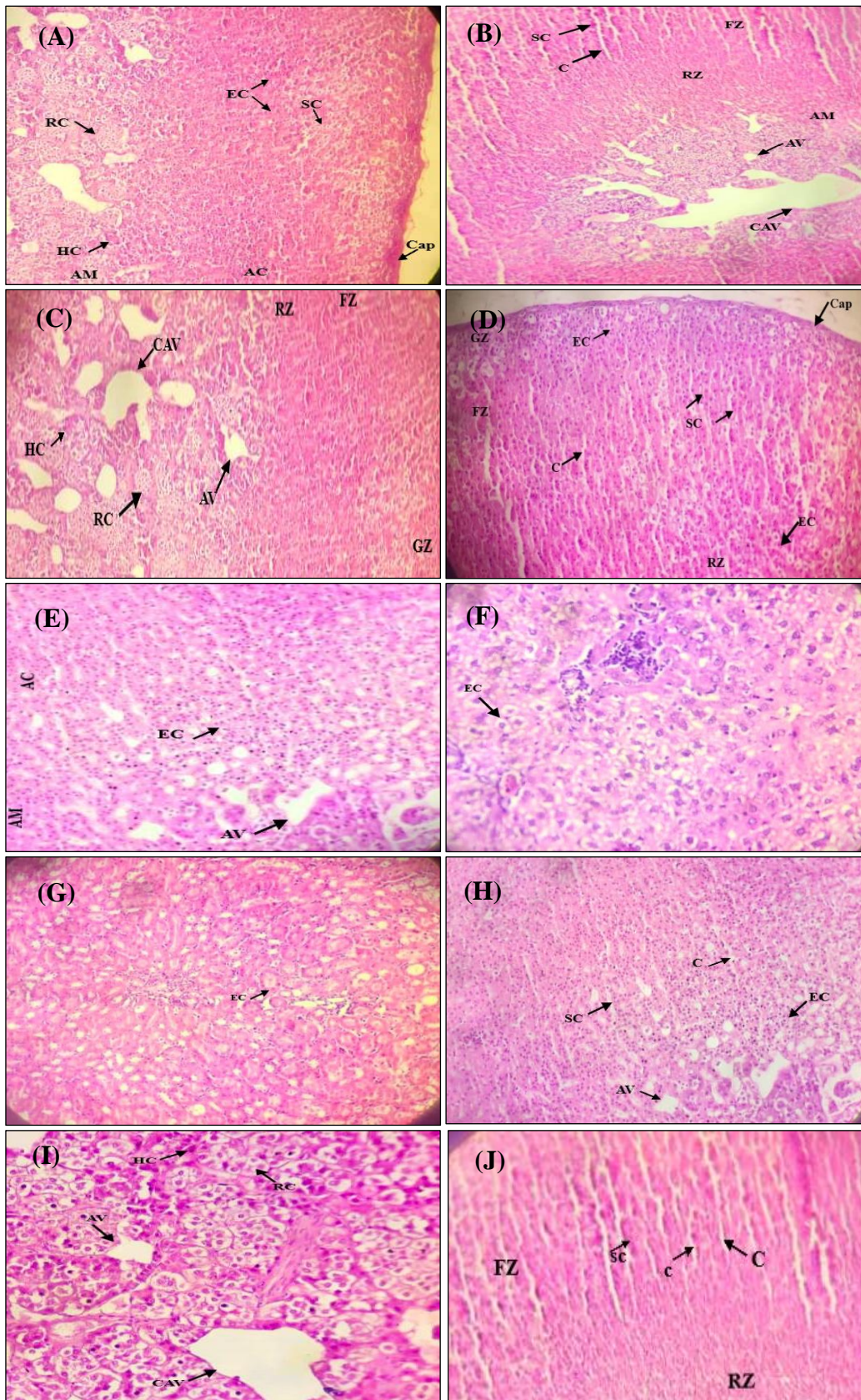


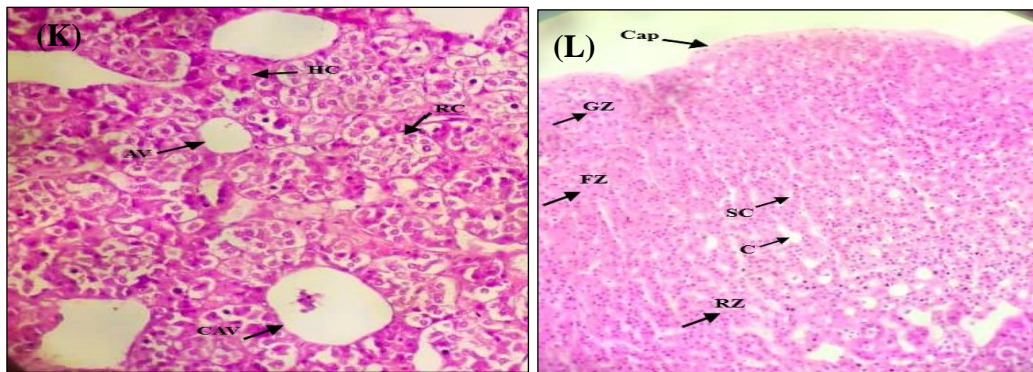


**Figure 19.** Examens photomicrographiques de coupes de tissus cérébrale colorées à l'hématoxyline et à l'éosine de rats Wistar utilisés comme témoins (A, B) et de rats auxquels on a injecté de l'hammine (C, D), un traitement à l'EEC200 (E, F), un traitement à l'EEC500 (G, H), le groupe H + EEC200 (I, J), et le groupe H + EEC500 (K, L). Zone de l'hippocampe (A, C), cortex cérébral (D), zone du ventricule latéral (B, E, F, G, H), zone du cervelet (I, J, K, L). Les flèches indiquent : Neuropil (N), Cellules neuronales (NC), Cellules gliales (GC), Vaisseau sanguin (BV), Fascia denté (DF), Plexus choroïde (CP), Couche épendymaire (EL), Cellules de Purkinje (PC), Cellules du panier : neurone (BC), Cellules granule (GRC). (H&E, x100, x200 and x400).

### 3.9.2 Effets du traitement sur l'architecture de la glande surrénale

La médullosurrénale du groupe témoin contient de nombreux endocrinocytes anastomosés (**Figure 20A**) ; le cortex de la glande surrénale présente une zonation bien définie et la zone fasciculaire (ZF) est marquée par des spongicytes (SC) distincts et bien vidés, séparés par des cordons cellulaires radiaux (**Figure 20B**). Chez les rats traités par H, la structure surrénalienne est bien conservée, les endocrinocytes (EC) génèrent des cordons épithéliaux clairs et la zone réticulaire contient un cytoplasme abondant et transparent. Les cellules endocrines médullaires se caractérisent par leur grande et leur petite taille, respectivement rhagiochromes et hyalochromes foncées (**Figure 20C, D**). Aucune altération histologique n'a été observée dans les groupes traités avec l'extrait EEC200 (**Figure 20E, F**) et EEC500 (**Figure 20G, H**) et à différentes doses combinées (**Figure 20I-L**). Le cortex et la médulla des surrénales présentaient des cellules éocrinocytaires typiques d'aspect nettement veineux.

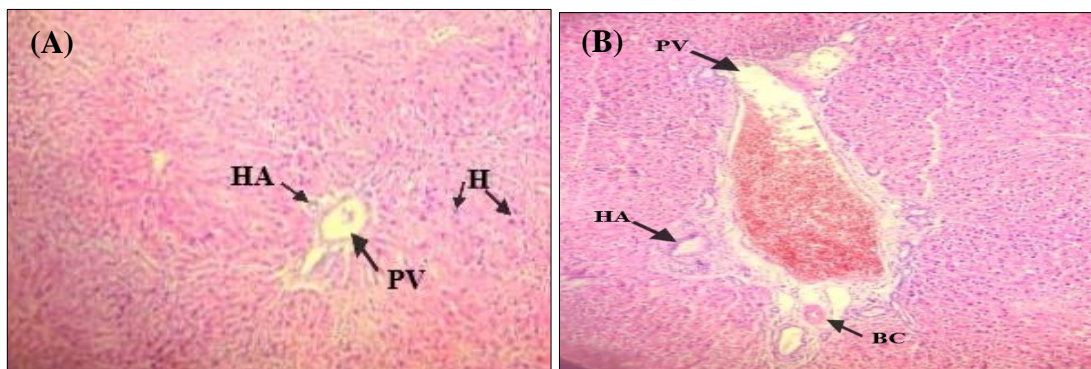


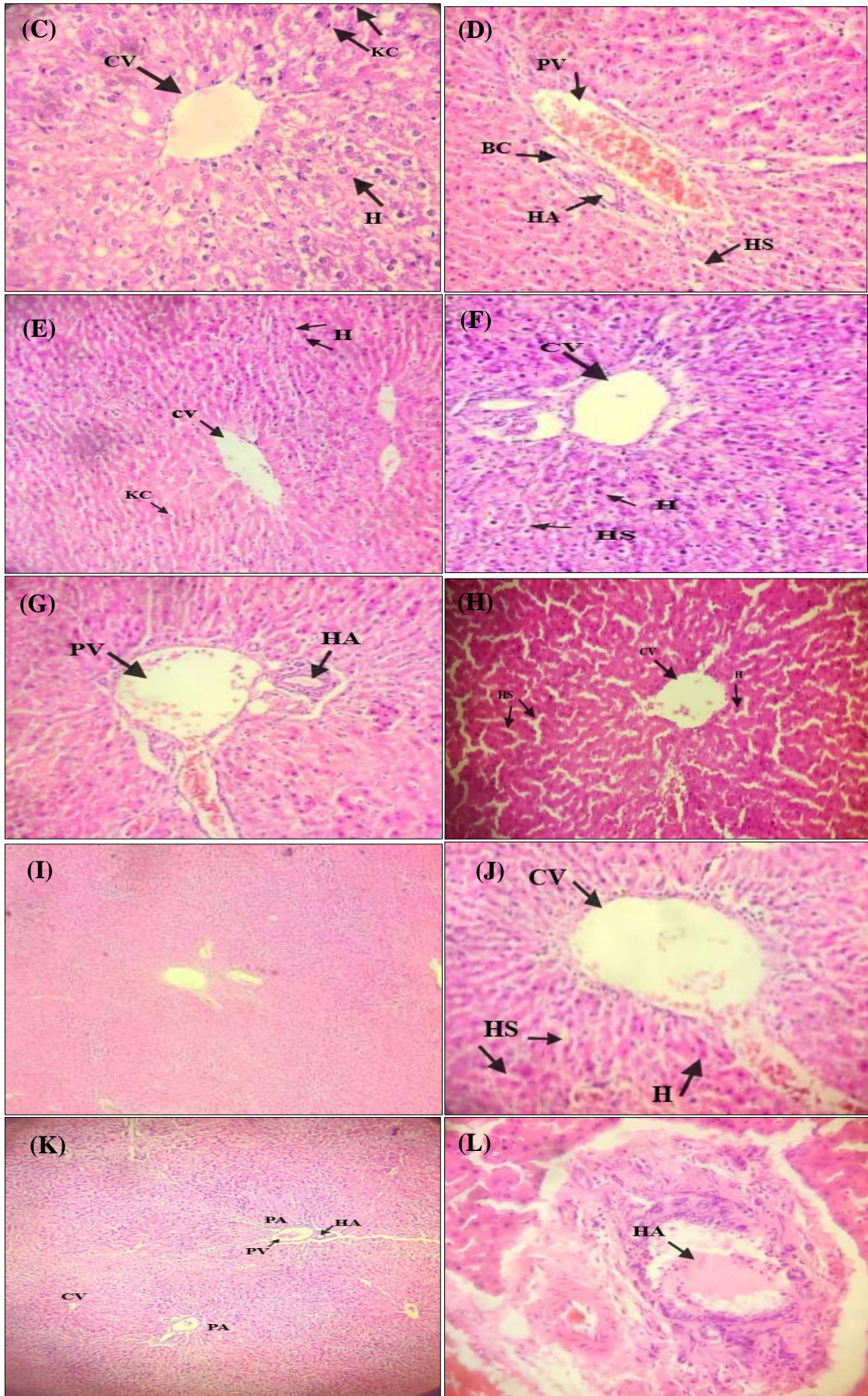


**Figure 20.** Photomicrographies de coupes de tissus de glandes surrénales colorées (H&E) de rats Wistar utilisés comme témoins (A, B), et de rats auxquels on a injecté de l'harmine (C, D), un traitement à l'EEC200 (E, F), un traitement à l'EEC500 (G, H), le groupe H + EEC200 (I, J), et le groupe H + EEC500 (K, L). Les flèches indiquent : Capsule (Cap), cortex surrénalien (AC), médullosurrénale (AM), zone glomérulaire (GZ), zone fasciculaire (FZ), zone réticulaire (RZ), capillaires (C), cellules endocrines (EC), cellules spongiocytaires (SC), cellules rhagiochromes (RC), cellules haylochromes (HC), veines surrénaliennes (AV), veines surrénaliennes centrales (CAV). (H&E, x100, x200and x400).

### 3.9.3 Effets du traitement sur l'architecture du foie

Les architectures hépatiques du foie après traitement à le H étaient similaires à celles du contrôle (**Figure 21A, B**), comprenant des hépatocytes à noyau clair disposés radialement autour d'une veine centrale (**Figure 21C**) et d'une zone portale normale (artère hépatique, veine et canaux biliaires) (**Figure 21D**). L'extrait de EEC n'a pas modifié de façon significative l'architecture hépatique (**Figure 21E-L**), où les hépatocytes sont entrelacés avec des sinusoides hépatiques à parois minces de calibre normal et des cellules de Kupffer avec une veine centro-lobulaire de taille normale et une zone portale visible.

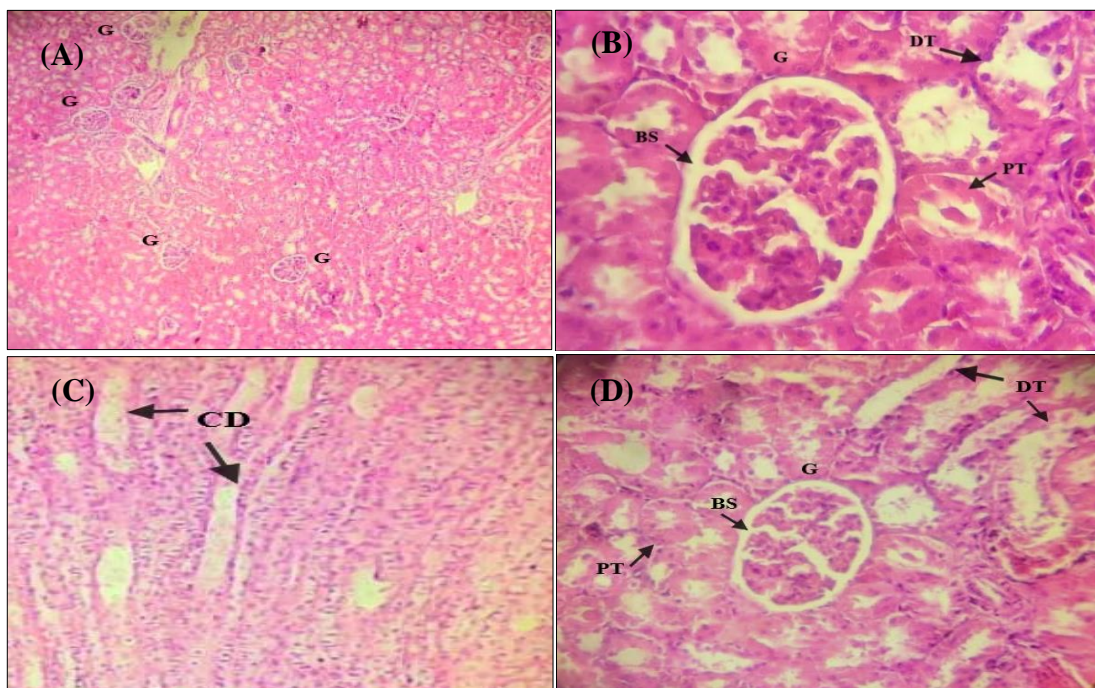


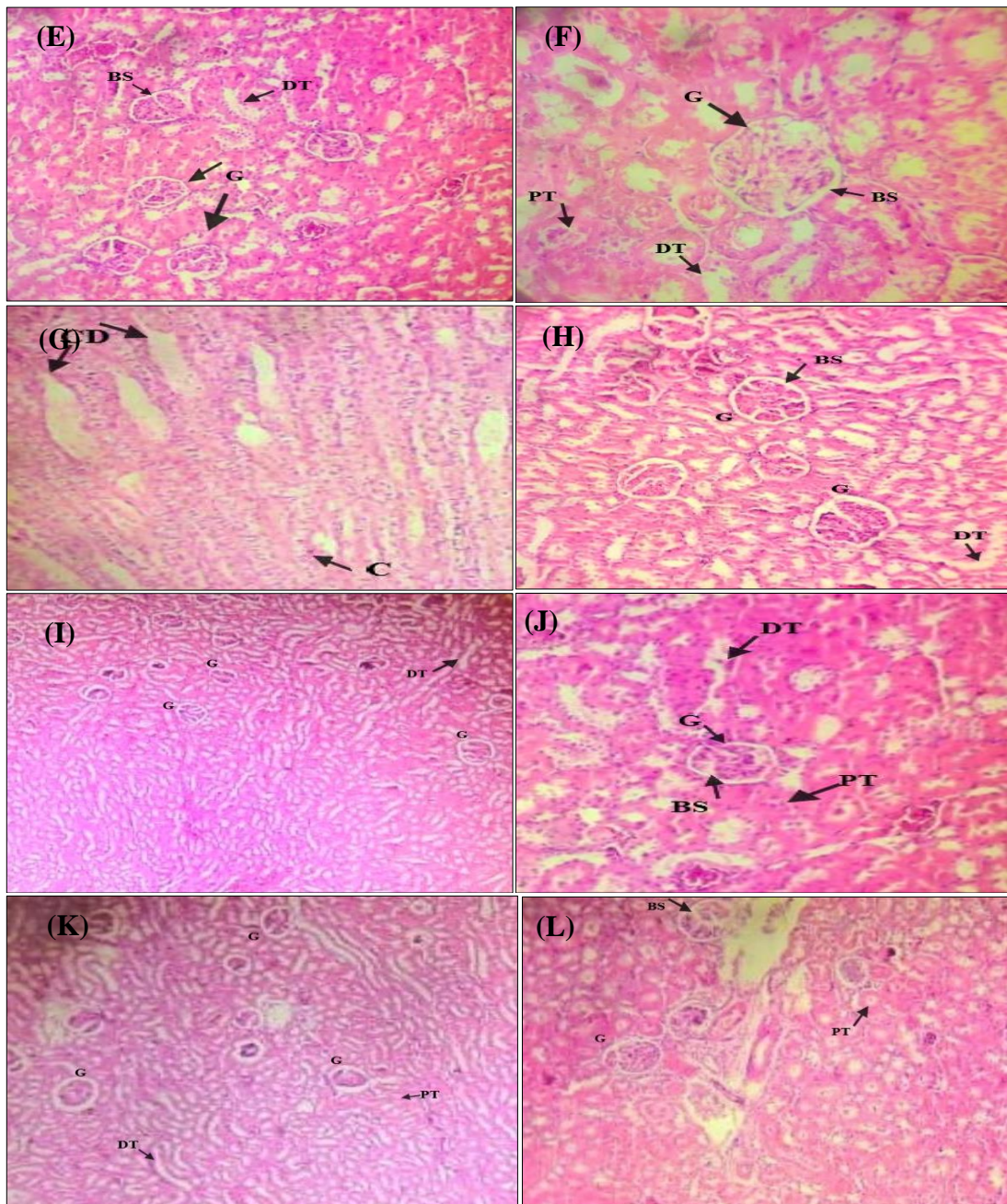


**Figure 21.** Examens photomicrographiques de coupes de tissus hépatiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine de rats Wistar utilisés comme témoins (A, B), et de rats auxquels on a injecté de l'harmine (C, D), un traitement à l'EEC200 (E, F), un traitement à l'EEC500 (G, H), le groupe H + EEC200 (I, J), et le groupe H + EEC500 (K, L). Les flèches indiquent : La veine centrolobulaire (CV), la zone portale (PA), les cellules de Kupffer (KC), les cellules hépatiques (H), les sinusoides hépatiques (HS), la veine portale (PV), l'artère hépatique (HA) et les canaux biliaires (BC). (H&E, x100, x200and x400).

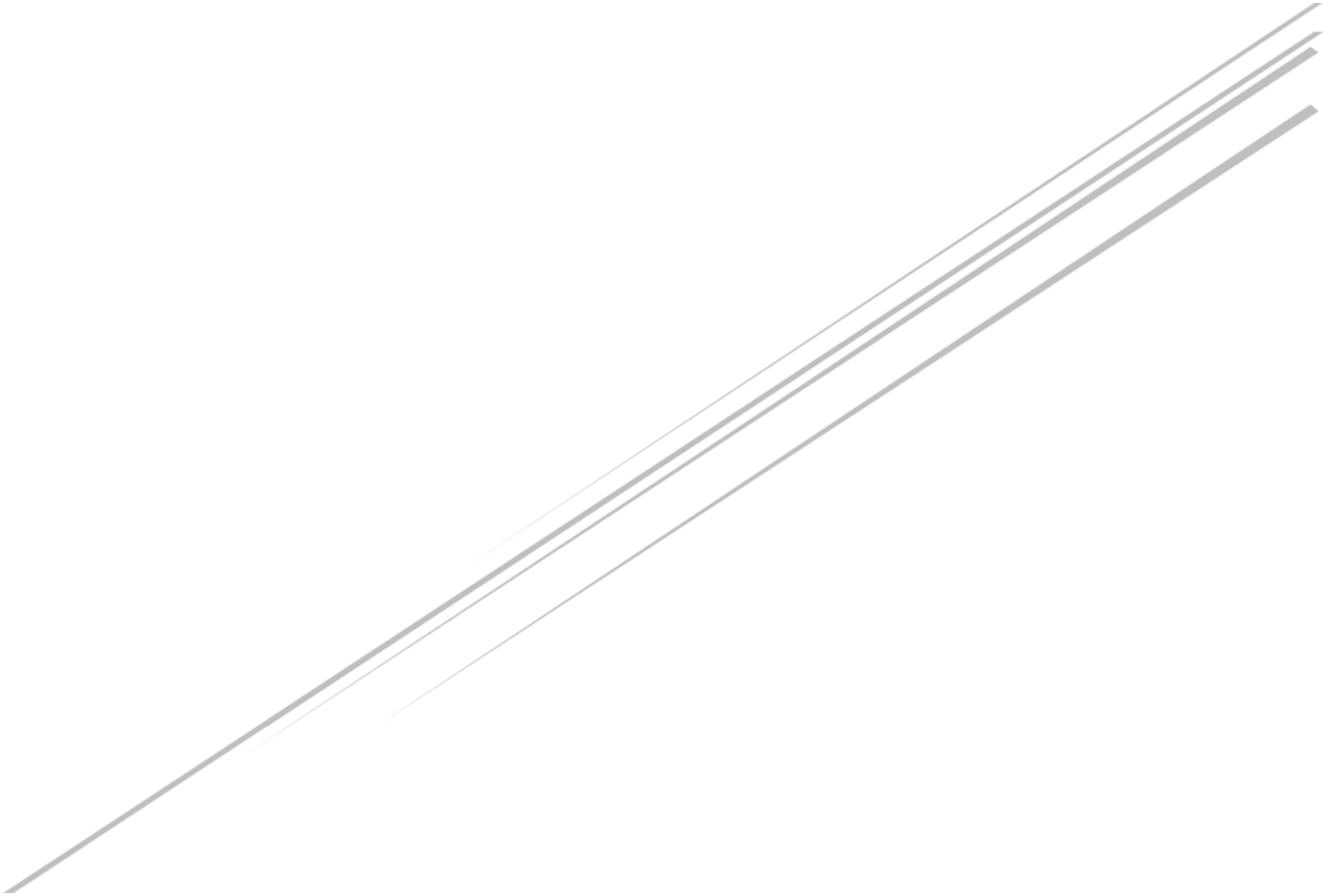
### 3.9.4 Effets du traitement sur l'architecture des reins

Les échantillons de rein du groupe témoin présentaient une capsule de Bowman de taille normale et une architecture glomérulaire rénale distincte (corpuscule de Malpighi) avec des tubules profilés (**Figure 22B**). Chez les rats traités avec H, l'espace glomérulaire (G) de la capsule de Bowman était de taille normale avec des tubules visibles (**Figure 22D**), et la section médullaire était claire avec des tubes collecteurs distincts (**Figure 22C**). Après traitement par l'extrait de *M. chamomilla* à 200 et 500 mg/kg, l'histoarchitecture rénale présentait une forme normale avec des tubules proximaux à lumière étroite et un épithélium cylindrique franc (**Figure 22E-H**). De même, il n'y avait pas de différence perceptible entre les groupes combinés au niveau des glomérules, des tubules et les tissus des autres groupes (**Figure 22I-L**).





**Figure 22.** Photomicrographies de coupes de tissus rénaux colorés (H&E) de rats Wistar utilisés comme témoins (A, B), et de rats auxquels on a injecté de l'harmine (C, D), un traitement à l'EEC200 (E, F), un traitement à l'EEC500 (G, H), le groupe H + EEC200 (I, J), et le groupe H + EEC500 (K, L). Les flèches indiquent : Glomérule (G), Tubules proximaux (PT), Tubules distaux (DT), Conduits collecteurs (CD), Espace de Bowman (BS), Capillaires (C). (H&E, x100, x200and x400).



# **DISCUSSION**

#### 4. Discussion

L'harmine est un alcaloïde  $\beta$ -carboline dérivé dans diverses plantes, y compris la plante *P. harmala* et fréquemment utilisé comme médicament. Il a été étudié pour ses effets pharmacologiques, y compris ses propriétés psychoactives. Cependant, des études ont également examiné ses effets sur différents organes, notamment le cerveau, le foie et les reins, ainsi que son impact sur le stress oxydatif. Cette étude visait à explorer les effets de l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* sur les rats exposés à l'harmine. En outre, *M. chamomilla* (Camomille) est une plante souvent utilisée pour ses propriétés apaisantes et anti-inflammatoires. Les extraits éthanoliques de camomille ont été étudiés pour diverses applications médicinales en raison de leurs composants actifs. L'objectif de cette étude soit de déterminer si l'extrait éthanolique de camomille (EEC) peut atténuer les effets négatifs de l'harmine (H) sur le cerveau, le foie, les reins et le stress oxydatif chez les rats.

Les résultats obtenus mettent en évidence l'absence de mortalité dans tous les groupes expérimentaux examinés. Cependant, des manifestations de toxicité ont été observées à la suite de l'injection intrapéritonéale d'harmine à la dose de 40 mg/kg. Ces manifestations incluent des tremblements, une diminution de l'activité locomotrice et physique des rats, suggérant ainsi des effets secondaires significatifs de l'harmine sur le système nerveux central. Ces signes cliniques présentent des similitudes avec les observations faites dans d'autres études, telles que celle de **(Bettihi et al., 2022)**, où l'administration d'un extrait total des alcaloïdes de *P. harmala* a provoqué des tremblements légers, une réduction de l'activité quotidienne, suivie d'une paralysie temporaire. Par ailleurs, l'administration d'harmaline, un alcaloïde de la  $\beta$ -carboline, a entraîné des tremblements sévères, comme mentionné dans **(Rahimi Shourmasti et al., 2012)**. Ces effets tremorogènes de la  $\beta$ -carboline pourraient être liés à l'excitabilité du système nerveux central, évoluant vers une rigidité musculaire. En outre, des recherches antérieures, notamment **(Amin et al., 2015)**, ont démontré que les  $\beta$ -carbolines peuvent induire des tremblements en agissant comme des agonistes inverses du récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA) ou en réduisant l'acide gamma-aminobutyrique (GABA).

Des études antérieures ont démontré que les  $\beta$ -carbolines, telles que l'harmaline, perturbent les compétences motrices et cognitives des rats **(Shabani et Naderi, 2022)**. L'influence de l'anxiété sur ces performances a également été évoquée par **(Thon et al., 2016)**. Les comportements anxieux chez les rats, ainsi que les processus neurobiologiques sous-jacents,

sont des indicateurs clés de l'anxiété et sont fortement influencés par des situations stressantes. Ces situations activent des structures cérébrales et des mécanismes biologiques qui ont été conservés au fil de l'évolution (**Matallah et al., 2015**). Les comportements anxieux chez les rats se manifeste par diverses réactions telles que l'évitement, l'agitation, la fuite, l'agression, une réduction de l'exploration de leur environnement et l'immobilité.

Pour évaluer ces comportements anxieux, cette étude utilise des tests non conditionnés, qui mesurent les réponses naturelles et spontanées des rats face à des stimuli anxiogènes. Ces tests sont essentiels pour observer l'anxiété sans nécessiter de conditionnement préalable de l'animal. Parmi les méthodes employées, le test en champ libre (Open Field, OF) et le test du labyrinthe en croix surélevé (Elevated Plus Maze, EPM) sont particulièrement notables. Le test en champ libre évalue l'activité générale et l'anxiété par l'observation du comportement exploratoire du rat dans un environnement ouvert et non familier, tandis que le labyrinthe en croix surélevé permet d'analyser l'équilibre entre les tendances d'exploration et d'évitement dans un contexte potentiellement anxiogène, offrant ainsi une possibilité de comprendre les mécanismes innés de la gestion du stress et de l'anxiété chez les rats (**Thon et al., 2016**).

Cette recherche souligne une diminution de la mobilité et une augmentation du niveau d'anxiété observées chez les rats exposés à l'harmine par rapport aux rats témoins lorsqu'ils sont soumis respectivement aux tests du labyrinthe en champ libre (OF) et du labyrinthe en croix surélevé (EPM). Ces deux labyrinthes représentent les tests les plus fréquemment employés dans les enquêtes sur le comportement animal (**Seibenhener et Wooten, 2015**). La diversité des paramètres conventionnels recueillis et examiner lors de l'exploration des deux labyrinthes autorisent le chercheur à évaluer un éventail de comportements, allant de l'activité locomotrice générale aux comportements émotionnels associés à l'anxiété. Les substances anxiogènes augmenteront la fréquence des entrées et le temps passé dans la zone périphérique puisque, en général, les animaux dans un état mentale optimal préfèrent d'accéder à la zone centrale plutôt qu'à la périphérie. De la même manière, en comptant le nombre d'animaux entrent dans chacun des quatre bras du labyrinthe en croix surélevé, il est également possible d'évaluer le caractère d'anxiogène d'un médicament. Lorsque l'animal réduit son exploration des bras ouverts, l'impact anxiogène est amplifié (**Carola et al., 2002**).

Au cours de cette investigation, l'anxiété chez les rats traités à l'harmine s'est manifestée par une augmentation du temps et du nombre de redressement et d'entrées dans les bras fermés, associée à une réduction du temps et du nombre d'entrées dans les bras ouverts lors du test EPM. De plus, on a noté une prolongation du temps passé dans les coins, une augmentation de

l'immobilité, et une diminution de la distance totale parcourue dans le test OF. En outre, plusieurs études ont validé l'interprétation selon laquelle un nombre important de redressements lors du test EPM peut être considéré comme un indicateur d'anxiété (**Horii et al., 2018**). Nos résultats sont en accord avec d'autres conclusions de recherches menées par (**Rahimi Shourmasti et al., 2012**), où les rats traités à l'harmaline ont manifesté un déficit moteur significatif dans le test en champ libre. De plus, l'administration d'harmane a induit une augmentation du temps d'immobilité (**Smith et al., 2013**), ce qui explique par la suite les propriétés sédatives et inhibitrices de la locomotion associées à l'harmane. Ces constatations sont également renforcées par les résultats de (**Shabani et Naderi, 2022**), où une injection d'harmaline entraîne une réduction de la distance parcourue par le rat lors du test OF. Cependant, à une dose de 10 mg/kg, l'harmane a confirmé son effet anxiolytique après un traitement pendant la grossesse (**Benatoui et al., 2022**).

La corticostérone, une hormone sécrétée par les glandes surrénales en réponse à l'ACTH, participe à la réaction au stress et peut influencer le comportement chez les rats. Nos résultats indiquent une augmentation des niveaux d'ACTH circulante chez les rats exposés à l'harmane par rapport aux rats témoins, tous soumis à une situation de stress similaire, suggérant une possible activation de l'axe hypothalamo-hypophysé-surrénalien (HHS). Une étude antérieure, (**Jiang et al., 2019**), a démontré la capacité de l'harmane à traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) dans le cerveau. De plus, des niveaux élevés d'ACTH et de corticostérone ont été enregistrés dans une étude antérieure utilisant la  $\beta$ -carboline harmane à une dose de 10 mg/kg, avec une stimulation de l'activité de l'axe HHS (**Smith et al., 2013**). Ces résultats globaux confirment le rôle significatif de l'harmane en tant que neuromodulateur, exerçant des effets notables sur le comportement et la régulation neuroendocrinienne.

En revanche, l'administration de l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* chez les rats exposés à l'harmane a inversé le comportement anxieux. Cette observation est étayée par le nombre élevé d'explorations des bras ouverts lors de l'EPM, et d'autre part, par la réduction du temps d'immobilité. Cela suggère que le traitement à la camomille a amélioré l'activité locomotrice des animaux en accroissant la distance parcourue par les rats lors du test en champ libre. Cette amélioration pourrait être attribuée à l'effet anxiolytique de cette plante. Nos résultats concordent avec d'autres études où une diminution du nombre de redressements a été enregistrée (**Al-Snafi et Lawahidh Fali, 2023**), ainsi que celles de (**Hashikawa-Hobara et al., 2019**), qui confirment que la camomille renforce l'activité locomotrice chez le rat et joue un rôle crucial dans le traitement de la résistance contre les comportements dépressifs.

Il est essentiel de souligner que l'administration de l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* a renversé ces changements hormonaux. Selon (Mehdi et Hasoon, 2020), l'extrait de *M. chamomilla*, possède des composants chimiques, dont les terpénoïdes, qui contrôlent le métabolisme et préviennent les altérations hormonales, ce qui lui permet d'abaisser radicalement les niveaux d'hormones (Subhdara et al., 2024). La diminution de la libération des hormones de stress, telles que le facteur de libération de la corticotrophine, qui provoque l'émission de cortisol et d'ACTH par l'hypophyse, pourrait être à l'origine de cette action (Janmejai, 2010). Ces résultats démontrent le rôle important de la camomille dans la régulation des éléments physiologiques associés au stress.

Le poids corporel est un indicateur sensible de la santé d'un organisme. Les changements de poids peuvent être le résultat de divers facteurs, notamment des perturbations métaboliques, des effets sur l'appétit, des altérations dans l'absorption des nutriments, et d'autres réponses physiologiques (Loha et al., 2019). Dans la présente étude, la fluctuation du poids corporel entre le groupe H et le groupe témoin était insignifiante, ce qui indique que la consommation quotidienne des rats H n'a pas été affectée et que le traitement par une dose unique d'harmine n'a pas eu d'effet négatif sur la croissance de l'animal. Ce résultat est cohérent avec des recherches antérieures (Bettihi et al., 2022), qui a constaté que l'administration de 10 mg/kg d'harmine, un alcaloïde, entraînait une augmentation du poids corporel. De même, (Wang et al., 2019) n'ont pas présenté de changement de poids corporel après l'administration de trois doses distinctes d'harmine.

En outre, la prise du poids corporel observée chez les rats traités avec l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* (EEC) peut être associée à une augmentation des concentrations de composés naturels tels que les flavonoïdes et les polyphénols, comme l'indiquent les travaux de (Asgharzade et al., 2015). Ces résultats suggèrent que l'extrait de *Matricaria recutita* peut enrichir le régime alimentaire des rats, contribuant ainsi à leur prise de poids. Cette observation est en accord avec d'autres études, telles que celle menée par (Hashikawa-Hobara et al., 2019), qui a également noté une augmentation du poids corporel chez les rats traités avec de la camomille sous conditions de stress similaires à celles de notre étude.

Cette cohérence avec les travaux précédents renforce l'idée que l'EEC pourrait jouer un rôle bénéfique dans le métabolisme des rats, notamment en améliorant leur réponse au stress par l'enrichissement de leur alimentation en composés phytochimiques bénéfiques. Cette intégration des flavonoïdes et des polyphénols dans leur régime peut non seulement influencer sur leur poids mais également contribuer à une meilleure régulation métabolique, soulignant

l'impact potentiel de l'extrait de *M. recutita*.

Nous disposons d'informations indiquant que l'alcaloïde harmine peut endommager tous les organes internes. Les variations significatives des poids absolus et relatifs du foie et des reins observées dans cette étude peuvent s'expliquer par l'accumulation d'harmine à l'intérieur de ces organes, une autre possibilité étant la production de radicaux libres (ERO) à l'intérieur des organes eux-mêmes. De plus, **(Rezzagui et al., 2020)** a démontré un changement dans le poids relatif des reins après l'administration d'un extrait brut de *P. harmala*, ce qui soutient notre suggestion. **(Benbott et al., 2022)** présente également des résultats similaires, montrant une augmentation du poids relatif du foie après l'administration subaiguë d'alcaloïdes (harmine et harmaline) extraits de *P. harmala*.

Le poids de ces deux organes est restauré avec une supplémentation en extrait éthanolique de *M. chamomilla*, ce qui indique que cette plante a un effet protecteur en diminuant la production de radicaux libres. Cette observation est appuyée par les travaux de **(Jabri et al., 2017)**, qui ont démontré que l'extrait issu de la décoction de camomille aide à prévenir l'accumulation de poids anormal dans les reins et le foie. Cette efficacité pourrait être due à la production d'antioxydants par la plante, une capacité confirmée par **(Sebai et al., 2015)**. En outre, **(Ozcan et al., 2014)** ont également établi que les propriétés protectrices attribuées aux composés phénoliques présents dans la plante étaient à l'origine de ces bienfaits. Ces découvertes conjointes renforcent l'importance de *M. chamomilla* comme un complément potentiellement bénéfique pour les organes, en particulier dans les contextes où le stress oxydatif joue un rôle prépondérant.

Le foie est capable de produire du glucose à partir de précurseurs tels que le lactate, les acides aminés et le glycérol, un processus connu sous le nom de néoglucogenèse. Cette capacité du foie à synthétiser du glucose est cruciale pour maintenir des niveaux sanguins de glucose stables. Par ailleurs, le foie est également impliqué dans la régulation du cholestérol sanguin. Il synthétise le cholestérol endogène et participe à la décomposition du cholestérol, et contrôle également son élimination **(Rezzagui et al., 2020)**. Par rapport au contrôle, les niveaux moyens de sucre dans le sang à la dose étudiée de H ont montré une augmentation non significative. Ce résultat est conforme aux recherches effectuées sur l'alcaloïde harmine, administré à une dose de 5 mg/kg, ainsi que sur l'extrait méthanolique de *P. harmala* **(Magdy et al., 2020; Zhanaidarova et al., 2019)**.

Le cholestérol total est la somme de tous les cholestérols présents dans le sang, y compris les particules HDL, LDL et VLDL. Il se trouve principalement dans les tissus nerveux. De nombreux troubles sont causés par un dérèglement de ce métabolisme lipidique (**Naim et al., 2019**). Comme le suggère l'augmentation du poids relatif du foie, l'examen du profil lipidique du foie a révélé une augmentation non perceptible du taux de cholestérol total dans le sang après la période de traitement. Ces fluctuations suggèrent également la possibilité de modifications hépatiques. Le rapport de l'équipe de recherche (**Zhanaidarova et al., 2019**) présente le même résultat après l'administration d'une dose de 10 mg/kg d'harmine. Selon une étude antérieure, la toxicité de l'harmine peut être réversible. Cela est particulièrement évident lorsque l'on constate une récupération significative des niveaux de cholestérol total après une période d'arrêt de l'administration de l'alcaloïde.

En revanche, les différences observées dans les autres groupes traités à l'EEC suggèrent que cette plante a un impact hypoglycémique. La supplémentation en extrait éthanolique de *M. chamomilla* (EEC) a été efficace pour normaliser les niveaux de cholestérol, corroborant les observations rapportées dans une étude de (**Barcin-Güzeldere et al., 2022**), qui a également noté des résultats similaires avec des traitements utilisant l'extrait de camomille. La capacité de *M. recutita* à influencer favorablement les profils lipidiques est attribuée à ses propriétés hypolipidiques, qui sont responsables de la baisse significative des niveaux de cholestérol chez les groupes traités avec l'extrait EEC comparativement aux groupes traités avec l'harmine seule et les groupes témoins.

Dans le domaine de l'hépatoprotection, les études menées par (**Al-Snafi et Lawahidh Fali, 2023; Prasanna et al., 2017**) ont montré des effets bénéfiques similaires lors de la co-administration de *M. chamomilla*. Ces recherches soutiennent la notion que les composés phénoliques, notamment les polyphénols, les flavonoïdes et les coumarines, jouent un rôle crucial dans l'atténuation des anomalies métaboliques (**Aryaeian et al., 2017**). Ces composés sont reconnus pour leur capacité à réduire les déséquilibres métaboliques tels que les taux élevés de cholestérol et de glycémie.

Plus spécifiquement, les études antérieures sur les extraits de *M. chamomilla* ont démontré les propriétés antioxydantes de cette plante et leur efficacité à réduire non seulement le cholestérol total (**Mannaa et al., 2015**), mais également les niveaux de glucose sanguin au niveau moléculaire (**Bhattacharjee et al., 2022; Khan et al., 2014**). Ces résultats mettent en lumière le potentiel thérapeutique des extraits de camomille, non seulement en tant que

modulateurs lipidiques et glycémiques mais aussi comme agents protecteurs globaux contre les dommages métaboliques et hépatiques.

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des molécules oxydantes produites naturellement dans les cellules en tant que sous-produits du métabolisme cellulaire normal. Parmi ces espèces, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et d'autres formes de radicaux libres sont particulièrement notables. Elles jouent un rôle crucial dans la signalisation cellulaire et la régulation de divers processus physiologiques.

Néanmoins, en présence de conditions anormales, telles que l'exposition à des toxines ou un dysfonctionnement métabolique, la production des ERO peut excéder la capacité de l'organisme à les neutraliser. Cet excès peut alors perturber l'équilibre fragile entre les mécanismes pro-oxydants et antioxydants dans les cellules. Lorsque cet équilibre est rompu, les ERO s'accumulent et provoquent un stress oxydatif, endommageant les composants cellulaires tels que les lipides, les protéines et l'ADN.

Ce phénomène survient lorsque la production des ERO dépasse la capacité des systèmes de défense antioxydants de la cellule. D'autre part, des circonstances inhabituelles comme l'empoisonnement augmentent considérablement la production des ERO (**Elhelaly et al., 2019**). Ces derniers inhibent les mécanismes de défense oxydative des organites, ce qui peut causer de graves dommages et un stress oxydatif en désactivant les enzymes par oxydation et en oxydant les acides gras polyinsaturés en lipides (**Nita et Grzybowski, 2016**).

Les résultats de cette étude démontrent clairement que, par rapport au groupe témoin, le traitement à l'harmine a entraîné une augmentation marquée de la MDA, une diminution significative de la teneur en GSH et une inhibition des activités GPx et GST dans les tissus cérébrale, hépatiques et rénaux. Ces constatations résultent de dysfonctionnements dans le système de piégeage des radicaux libres (ERO). Ce déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants valide simultanément les effets néfastes de l'harmine sur les fonctions de l'organisme. Comme le montrent de nombreuses études, la stimulation des défenses oxydatives antioxydantes favorise la production de radicaux libres (ERO) au niveau des organes. Le MDA est le principal marqueur clé de cette peroxydation lipidique (**Trea et al., 2022**).

Dans cette étude, l'harmine à une dose de 40 mg/kg a provoqué la production des ERO, qui s'est manifestée par une production excessive de MDA. Cela a entraîné une baisse des

marqueurs antioxydants primaires impliqués dans le piégeage des radicaux libres, tels que le GSH, le GPx et le GST. Ces résultats sont corroborés par (Réus *et al.*, 2012), qui démontre l'impact néfaste de l'harmine et des dérivés de la  $\beta$ -carboline sur le dysfonctionnement mitochondrial, ce qui entraîne des pertes de glutathion et une augmentation des espèces réactives de l'oxygène et du disulfure de glutathion. Comme on le sait déjà, les mitochondries sont la principale source de production des ERO nocifs, et différents inhibiteurs mitochondriaux peuvent augmenter cette production (Nakagawa *et al.*, 2010). Comme les mitochondries se trouvent dans les hépatocytes, comme dans d'autres cellules organiques, l'augmentation de la MDA dans les reins des rats H confirme ces résultats. En accord avec ces résultats, il a été démontré que l'harmine ou ses analogues réduisent de manière significative la teneur en GSH tout en augmentant simultanément les niveaux de MDA et de disulfure de glutathion (GSSG). Ces résultats sont cohérents avec les recherches effectuées par (Nakagawa *et al.*, 2010).

Cependant, le traitement avec l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* (EEC) a démontré une efficacité supérieure au groupe témoin en matière d'activité enzymatique, affichant des niveaux élevés de glutathion (GSH) et des niveaux réduits de malondialdéhyde (MDA) pour les deux dosages examinés. Inversement, chez les rats traités avec différentes combinaisons de l'harmine (H) et de l'EEC, une amélioration notable a été observée, manifestée par une augmentation des niveaux de GSH dans le foie et les reins. Cette récupération pourrait être attribuée à un mécanisme de réparation cellulaire ciblant les macromolécules endommagées, suggérant le rôle crucial de l'EEC dans la protection et la restauration des cellules face aux dommages oxydatifs.

Parallèlement, plusieurs études ont démontré la capacité antioxydante de *M. chamomilla* à réduire l'apparition des ERO. *M. chamomilla* possède une forte activité antioxydante en piégeant les radicaux libres (Al-Snafi et Lawahidh Fali, 2023), et présente simultanément de grandes quantités de flavonoïdes et de phénols, qui sont les principales sources de la capacité antioxydante de *M. chamomilla* (Sebai *et al.*, 2015). Des recherches antérieures indiquent que quelques composés phénoliques présents dans *M. recutita* (Jabri *et al.*, 2017; Sebai *et al.*, 2015), et en particulier les flavonoïdes (Mannaa *et al.*, 2015), ont un effet protecteur sur le foie et les reins en piégeant l' $H_2O_2$ , renforçant ainsi la défense naturelle de l'organe contre le stress oxydatif. Ces résultats sont cohérents avec les études où l'extrait de *M. chamomilla* a considérablement réduit le degré de changements oxydatifs de l'azathioprine (Mannaa *et al.*, 2015) et du peroxy-nitrite dans le plasma sanguin (Kolodziejczyk-Czepas *et al.*, 2015).

La forte concentration d'acides gras polyinsaturés dans les membranes neuronales expose le cerveau à une vulnérabilité accrue face aux attaques des radicaux libres. Cette susceptibilité est due à la capacité des acides gras à réagir avec les radicaux libres, entraînant potentiellement des dommages cellulaires significatifs dans les tissus cérébraux (**Berbak et al., 2018**). En outre, par rapport à d'autres tissus, la capacité de défense antioxydante enzymatique du cerveau est plutôt insuffisante. La capacité de l'harmine et des  $\beta$ -carboline en général à passer la barrière hémato-encéphalique a été démontrée dans un certain nombre d'études (**Jiang et al., 2019**). En effet, le stress oxydatif induit par les radicaux libres peut endommager les cellules et altérer les performances cognitives. L'enzyme acétylcholinestérase se trouve dans divers tissus des rats, y compris le cerveau. Des études ont prouvé que des modifications de l'activité de cette enzyme peuvent avoir un impact sur le comportement et les processus cognitifs de ces rongeurs (**Ammari, 2008**).

Il est particulièrement remarquable de constater que la concentration d'acétylcholinestérase (AChE) dans le cerveau a considérablement diminué chez les rats exposés à l'harmine, en comparaison avec le groupe témoin. Cette observation est corroborée par des études antérieures, notamment celles de (**Boulland et Levy, 2005**), qui ont identifié le stress oxydatif et l'inhibition des fonctions métaboliques comme des facteurs influençant directement les niveaux de neurotransmetteurs synaptiques, tels que l'acétylcholine. Ces recherches fournissent un cadre explicatif pour nos résultats, indiquant une perturbation significative de la neurotransmission. En outre, les travaux de (**Zhanaidarova et al., 2019**) confirment que l'harmine affecte les capacités énergétiques et métaboliques chez le rat, ce qui pourrait expliquer les modifications observées dans l'activité de l'AChE. Les résultats d'études complémentaires par (**He et al., 2015**) ainsi que (**Jiang et al., 2019**) sont en accord avec nos observations, démontrant que l'administration de l'harmine entraîne une réduction de l'activité de l'acétylcholinestérase, soutenant l'idée d'une interaction significative de l'harmine avec les processus métaboliques et neurotransmetteurs cérébraux.

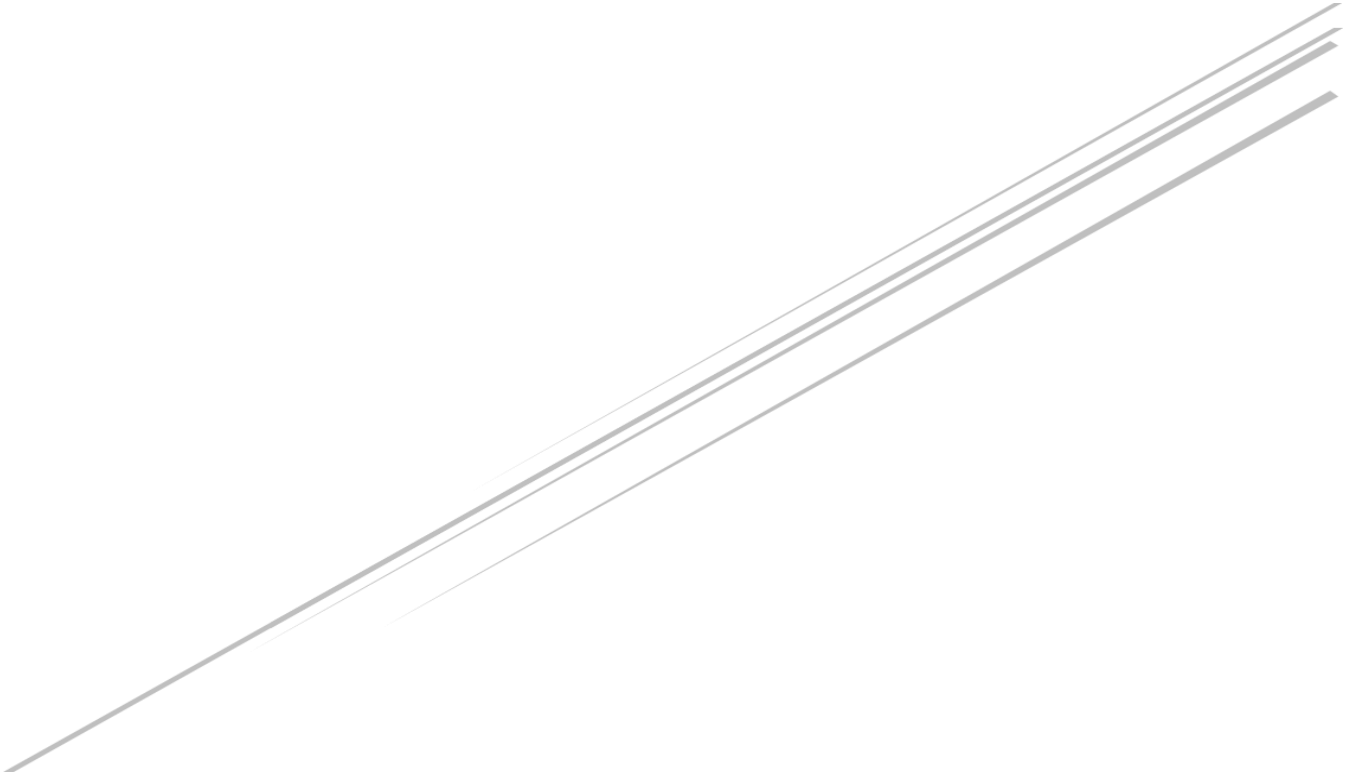
Bien que le développement du stress oxydatif soit un facteur important dans les modifications tissulaires, l'analyse histomorphologique microscopique des organes étudiés : cerveau, foie, reins et glande surrénale, n'a pas montré de changements pathologiques significatifs ou de conséquences toxiques dans le groupe H. Les résultats sont cohérents avec ceux d'autres études. Selon les conclusions de (**Zhanaidarova et al., 2019**), le traitement avec de l'harmine à des doses de 2,5 et 5 mg/kg pendant une période de trois mois ne semble induire aucun effet néfaste sur le cerveau et les glandes surrénales, qui suggère que le traitement persistant de

doses modestes de l'alcaloïde harmine, par opposition à des niveaux élevés, ne provoque pas d'altérations morphologiques.

Ces résultats confirment les nôtres ou les altérations provoquées par l'harmine dépendaient des niveaux de dosage et de durée du traitement (**Réus et al., 2012**). Il est important de noter que, dans le cadre de cette étude, une seule injection d'harmine à la dose de 40 mg/kg ne semble pas entraîner d'altérations discernables dans les tissus cérébraux et les glandes surrénales ce qui peut donc être interprété comme un impact dépendant de la dose.

En outre, d'autres recherches antérieures ont indiqué que l'absence de lésions tissulaires après exposition aux alcaloïdes de la  $\beta$ -carboline est probablement liée au temps d'échantillonnage et, par conséquent, à la vitesse à laquelle l'harmine est éliminée de l'organe (**Wang et al., 2019**). Par ailleurs, (**Muhi-eldeen et al., 2008**) a montré qu'une dose de 50 mg/kg d'extrait végétal de *P. harmala* ne semblait pas avoir d'effets nocifs sur les reins ou le foie.

Cependant, lors de l'exposition à l'extrait de EEC, l'histologie du foie et des reins n'a pas montré d'altérations perceptibles. L'activité antioxydante de l'EEC a été démontrée par le fait que les deux dosages ont maintenu un effet protecteur contre les changements enzymatiques et métaboliques dans les deux organes. Les résultats de nos recherches rejoignent ceux de (**Mannaa et al., 2015**), qui montrent que cette plante contient des substances naturelles susceptibles d'être des antioxydants hépato-protecteurs. De plus, les résultats de l'étude (**Alibabaei et al., 2014**) mettent en évidence les bienfaits de la camomille sur le cerveau et suggèrent que la réduction du stress oxydatif attribuée à la camomille pourrait résulter de son action de piégeage des radicaux libres, grâce aux composants actifs présents dans l'extrait de *M. chamomilla*.



**CONCLUSION**  
**&**  
**PERSPECTIVES**

## **5. Conclusion et perspectives**

L'objectif de cette étude vise à examiner le potentiel anxiogène, le stress oxydatif, et les divers effets secondaires susceptibles d'être déclenchés par l'harmine chez les rats. De plus, elle cherche à évaluer les effets protecteurs d'une supplémentation avec un extrait végétal reconnu pour ses propriétés anxiolytiques, à savoir *M. chamomilla*.

En résumé, les conclusions de la présente recherche mettent en évidence les perturbations neurocomportementales significatives induites par l'harmine, un alcaloïde naturellement présent dans certaines plantes. Les tests réalisés révèlent que ces altérations comportementales correspondent à un état dépressif et anxieux chez les rats. De manière concomitante, des perturbations au niveau du système endocrinien sont observées, notamment des variations dans la régulation de l'ACTH (adrénocorticotrophine), une hormone clé dans la réponse au stress. Ces modifications endocriniennes suggèrent une influence directe de l'harmine sur les mécanismes de régulation du stress dans l'organisme.

Par ailleurs, l'étude souligne les effets de l'harmine au niveau enzymatique, avec des perturbations notables du système d'oxydoréduction dans le cerveau, le foie et les reins. Cela se traduit par une augmentation de la peroxydation lipidique et une diminution de l'activité enzymatique de certaines enzymes antioxydantes. Ces observations suggèrent que l'influence de l'harmine va au-delà du système endocrinien, entraînant des perturbations enzymatiques et ayant également le potentiel d'engendrer des répercussions importantes sur une variété de processus métaboliques et physiologiques dans l'organisme, soulignant ainsi la complexité des réponses biologiques à cette substance naturelle.

Ces observations soulignent les implications potentielles de l'harmine sur le fonctionnement hormonal et les processus métaboliques. Cependant, une note positive émerge de cette étude avec la constatation que la supplémentation par l'extrait éthanolique de camomille (EEC) semble atténuer ces modifications induites par l'harmine. L'EEC semble exercer un effet protecteur par la régulation des éléments physiologiques associés au stress et en atténuant les altérations au niveau des niveaux d'ACTH et aussi en modulant les perturbations métaboliques et énergétiques induites par l'harmine. Cette atténuation pourrait être attribuée à la capacité de l'EEC à moduler la réponse hormonale et posséder des propriétés régulatrices sur le métabolisme et renforcer les mécanismes de défense antioxydants enzymatiques. Il est plausible que les propriétés antioxydantes robustes de l'EEC contribuent à neutraliser les

espèces réactives de l'oxygène (ERO) générées par l'harmine, limitant ainsi les dommages oxydatifs. Cette amélioration de la capacité antioxydante pourrait résulter de la composition biochimique de l'EEC, riche en composés phytochimiques bénéfiques.

En conclusion, bien que l'harmine induise des changements notables dans le système endocrinien et oxydoréduction, l'administration concomitante d'EEC offre une perspective prometteuse en atténuant ces altérations. Ces résultats suggèrent un potentiel bénéfique de l'utilisation de l'EEC comme agent modulateur pour contrer les effets indésirables de l'harmine, offrant ainsi des pistes de recherche et des applications potentielles dans le domaine de la santé et de la pharmacologie.

Ce travail reste cependant préliminaire et d'autres recherches seront essentielles pour élucider les raisons sous-jacentes des effets induits par les substances nocives. Dans un avenir proche, nous prévoyons d'étendre cette étude par d'autres investigations :

- Exploration des Mécanismes Moléculaires : poursuivre la recherche en examinant de manière approfondie les mécanismes moléculaires sous-jacents de ces perturbations (les voies métaboliques et les protéines spécifiques pourraient fournir des informations cruciales sur les cibles cellulaires de l'harmine).
- Évaluation des Effets à Long Terme : investiguer les effets à plus long terme de l'exposition à l'harmine en prolongeant la période d'observation. Cela permettrait de mieux comprendre l'évolution des altérations au fil du temps et d'évaluer si certaines perturbations se rétablissent ou persistent.
- Exploration de la Plante (*M. chamomilla*) et Étude Phytochimique : Une étude phytochimique approfondie pourrait être entreprise pour analyser la composition chimique de la plante, en tenant compte des variations régionales. Comprendre ces variations phytochimiques permettrait d'établir des liens entre la composition de la plante et les effets observés.



**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## Références bibliographiques

## A

- Adamski, Z., Blythe, L. L., Milella, L., & Bufo, S. A. (2020). Biological Activities of Alkaloids: From Toxicology to Pharmacology. *Toxins*, 12(4), 210. <https://doi.org/10.3390/toxins12040210>
- Akbari, B., Baghaei-Yazdi, N., Bahmaie, M., & Mahdavi Abhari, F. (2022). The role of plant-derived natural antioxidants in reduction of oxidative stress. *BioFactors*, 48(3), 611–633. <https://doi.org/10.1002/biof.1831>
- Al-Dabbagh, B., Elhaty, I. A., Elhaw, M., Murali, C., Al Mansoori, A., Awad, B., & Amin, A. (2019). Antioxidant and anticancer activities of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *BMC Research Notes*, 12(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3960-y>
- Al-Snafi, A. E., & Hasham, L. F. (2023). Bioactive constituents and pharmacological importance of *Matricaria chamomilla*: A recent review. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 22(2), 079–098.
- ALChlabi, A. M., & Abdul-Rahman, S. Y. (2019). Effect of ration supplementation with chamomile, oak leaves and probiotic on antioxidant status and enteric microflora of heat-stressed quail. *Mesopotamia Journal of Agriculture*, 47, 9.
- Ali Esmail Al-Snafi, & Lawahidh Fali Hasham. (2023). Bioactive constituents and pharmacological importance of *Matricaria chamomilla*: A recent review. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 22(2), 079–098. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.22.2.0477>
- Alibabaei, Z., Rabiei, Z., Rahnama, S., Mokhtari, S., & Rafieian-kopaei, M. (2014). *Matricaria Chamomilla* extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. *Biomedicine & Aging Pathology*, 4(4), 355–360. <https://doi.org/10.1016/j.biomag.2014.07.003>
- Amin, B., Malekzadeh, M., Heidari, M. R., & Hosseinzadeh, H. (2015). Effect of *Crocus sativus* extracts and its active constituent safranal on the harmaline-induced tremor in mice. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(5), 449–458. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26124930>
- Ammari, M. (2008). *Effets des champs électromagnétiques sur le comportement: le stress oxydant et le métabolisme oxydatif cérébral chez le rat*. Doctoral dissertation, Paris 7.
- Amsterdam, J. D., Li, Q. S., Xie, S. X., & Mao, J. J. (2020). Putative Antidepressant Effect of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Oral Extract in Subjects with Comorbid Generalized Anxiety Disorder and Depression. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 26(9), 815–821. <https://doi.org/10.1089/acm.2019.0252>
- Anywar, G. (2020). Historical Use of Toxic Plants. In *Poisonous Plants and Phytochemicals in Drug Discovery* (pp. 1–17). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119650034.ch1>
- Arif, M., Wang, X., Kazi, M. S. K., Ullah Khan, S., Saeed, S., Khan, A. M., Khan, R. A., Afzal, M., Nawaz, A. F., Zia, M. A., O. Elansary, H., Shokralla, S., Alhalabi, A., Gul, A., & Fiaz, S. (2022). Antimicrobial activities of different solvent extracts from stem and

- seeds of *Peganum Harmala* L. *PLOS ONE*, 17(4), e0265206. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265206>
- Aryaeian, N., Khorshidi Sedehi, S., & Arablou, T. (2017). Polyphenols and their effects on diabetes management: A review. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 31(1), 886–892. <https://doi.org/10.14196/mjiri.31.134>
- Asgharzade, S., Rabiei, Z., & Rafieian-Kopaei, M. (2015). Effects of *Matricaria chamomilla* extract on motor coordination impairment induced by scopolamine in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(10), 829–833. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.06.006>

## **B**

- Baba Aïssa, F. (2016). *Guide de botanique médicale de la flore méditerranéenne et nordafricaine*. (El Hibr.).
- Barcin-gÜzeldere, H. K., BÜyÜkuslu, N., & İduĖ, T. (2022). The effect of chamomile extract on blood sugar level, lipid profile and body weight in high-fat diet fed rats. *ACTA Pharmaceutica Scientia*, 60(2), 207. <https://doi.org/10.23893/1307-2080.APS.6014>
- BENAMROUCHE, M., MERDJANE, S., OUAMARA, M., & BENMERZOUGA, F. (2021). *Contribution à l'étude botanique et physicochimique de trois plantes toxiques d'Algérie: Chardon à glu, Oreille d'éléphant et le Dieffenbachia ainsi qu'à l'étude de la toxicité de Chard*.
- Benatoui, R., Bairi, A., & Tahraoui, A. (2022). Female Rats Maintain Pregnancy in Shade Immunologic Perturbations Exerted by Harmine and Footshock Stress Attempts to Labor. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 13(8). <https://doi.org/10.31858/0975-8453.13.10.711-721>
- BENBOTT, A., MOSBEH, C., KAROUCHE, S., HAMADOUCHE, N., & MAHDI, D. (2022). Subacute hepatotoxicity of alkaloids extracts of *Peganum harmala* L. seeds in Wistar albino rats. *Notulae Scientia Biologicae*, 14(2). <https://doi.org/10.55779/NSB14211211>
- Bensalem, S., Soubhye, J., Aldib, I., Bournine, L., Nguyen, A. T., Vanhaeverbeek, M., Rousseau, A., Boudjeltia, K. Z., Sarakbi, A., Kauffmann, J. M., Nève, J., Prévost, M., Stévigny, C., Maiza-Benabdesselam, F., Bedjou, F., Van Antwerpen, P., & Duez, P. (2014). Inhibition of myeloperoxidase activity by the alkaloids of *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 154(2), 361–369. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.03.070>
- Berbak, S., Haddad, N., Lansueur, Z., Thiebot, P., Curis, E., Desaulle, D., Kousignian, I & Lerouet, D. (2018). Évaluation du stress oxydant après une ischémie cérébrale chez le rat. *Acta Discipulorum Academiae Medicamentariae Artis.*, 15–19.
- Bettihi, S., Mahdeb, N., & Bouzidi, A. (2022). Evaluation of Maternal Toxicity in Rats Exposed to the Total Extract of the Alkaloids in the seeds of *Peganum harmala* L. during Pregnancy. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 10(10),

- 2067–2075. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v10i10.2067-2075.5491>
- Bettiol, A., Lombardi, N., Marconi, E., Crescioli, G., Bonaiuti, R., Maggini, V., Gallo, E., Mugelli, A., Firenzuoli, F., Ravaldi, C., & Vannacci, A. (2018). The use of complementary and alternative medicines during breastfeeding: results from the Herbal supplements in Breastfeeding InvesTigation (HaBIT) study. *British Journal of Clinical Pharmacology*, *84*(9), 2040–2047. <https://doi.org/10.1111/bcp.13639>
- Bhattacharjee, S., Ray, A., & Chakraborty, K. (2022). Therapeutic and ethnopharmacological role of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) and its holistic impact on genomics-a comprehensive review. *World J. Pharm. Res*, *11*, 705. <https://doi.org/10.20959/wjpr20222-22910>
- Bohui, P. S. G., Adima, A. A., Niamké, F. B., & N'Guessan, J. D. (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales: *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de La Société Ouest-Africaine de Chimie*, *46*, 50–58.
- Boncan, D. A. T., Tsang, S. S. K., Li, C., Lee, I. H. T., Lam, H.-M., Chan, T.-F., & Hui, J. H. L. (2020). Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(19), 7382. <https://doi.org/10.3390/ijms21197382>
- Boulland, J.-L., & Levy, L. M. (2005). [Glutamate, glutamine and ischaemia in the central nervous system]. *Tidsskrift for Den Norske Laegeforening: Tidsskrift for Praktisk Medicin, Ny Raekke*, *125*(11), 1479–1481. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15940312>
- Boussahel, S. (2018). *Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif*.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*((1-2)), 248-254. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brossaud, J., Bouton, M., Gatta, B., Tabarin, A., & Corcuff, J.-B. (2011). Use of an automated ACTH assay for the diagnosis of pituitary and adrenal-related diseases. *Clinical Biochemistry*, *44*(13), 1160–1162. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.06.002>
- Bulgari, M., Sangiovanni, E., Colombo, E., Maschi, O., Caruso, D., Bosisio, E., & Dell'Agli, M. (2012). Inhibition of Neutrophil Elastase and Metalloprotease-9 of Human Adenocarcinoma Gastric Cells by Chamomile (*Matricaria recutita* L.) Infusion. *Phytotherapy Research*, *26*(12), 1817–1822. <https://doi.org/10.1002/ptr.4657>

## C

- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research*, *134*(1–2), 49–57. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00452-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00452-1)
- Chen, Q., Chao, R., Chen, H., Hou, X., Yan, H., Zhou, S., Peng, W., & Xu, A. (2005).

Antitumor and neurotoxic effects of novel harmine derivatives and structure-activity relationship analysis. *International Journal of Cancer*, 114(5), 675–682. <https://doi.org/10.1002/ijc.20703>

## D

- De Gubernatis, A. (2023). *La mythologie des plantes : Les légendes du règne végétal-Tome 2*.
- De Luca, V., Salim, V., Levac, D., Atsumi, S. M., & Yu, F. (2012). *Discovery and Functional Analysis of Monoterpenoid Indole Alkaloid Pathways in Plants* (pp. 207–229). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394290-6.00010-0>
- Dhakad, A. K., Ikram, M., Sharma, S., Khan, S., Pandey, V. V., & Singh, A. (2019). Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. *Phytotherapy Research*, 33(11), 2870–2903. <https://doi.org/10.1002/ptr.6475>
- Djama, S., & Karour, T. (2020). *Les alcaloïdes: classification, extraction, criblage et activités biologiques*. Université Mouloud Mammeri.

## E

- Elhelaly, A. E., AlBasher, G., Alfarraj, S., Almeer, R., Bahbah, E. I., Fouda, M. M. A., Bungău, S. G., Aleya, L., & Abdel-Daim, M. M. (2019). Protective effects of hesperidin and diosmin against acrylamide-induced liver, kidney, and brain oxidative damage in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(34), 35151–35162. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06660-3>
- Ellman G.L., Courtney K.D., ANDRES V., F. R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88–95.

## F

- Farzaei, M. H., Bayrami, Z., Farzaei, F., Aneva, I., Das, S. K., Patra, J. K., ... & Abdollahi, M. (2020). Poisoning by medical plants. *Archives of Iranian Medicine*, 23(2), 117–127.
- Ferreira, G. G., Brandão, D. L. do N., & Dolabela, M. F. (2020). Predição do comportamento farmacocinético, toxicidade e de atividades biológicas de alcaloides isolados de *Geissospermum laeve* (Vell.) Miers. *Research, Society and Development*, 9(12), e27991211056. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i12.11056>
- Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984). Assays of Gluthathione Peroxidase. *Methods in Enzymology*, 105, 114–120.

- Fortress, A. M., Smith, I. M., & Pang, K. C. H. (2018). Ketamine facilitates extinction of avoidance behavior and enhances synaptic plasticity in a rat model of anxiety vulnerability: Implications for the pathophysiology and treatment of anxiety disorders. *Neuropharmacology*, *137*, 372–381. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.05.009>
- Fortunato, J. J., Réus, G. Z., Kirsch, T. R., Stringari, R. B., Fries, G. R., Kapczinski, F., Hallak, J. E., Zuardi, A. W., Crippa, J. A., & Quevedo, J. (2010). Effects of  $\beta$ -carboline harmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: Further evidence of antidepressant properties. *Brain Research Bulletin*, *81*(4–5), 491–496. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2009.09.008>

## G

- Ghizlane, E. A., Manal, M., Ines, H. A., Soufiane, D., Moussa, L., Houssam, B., & Brahim, H. (2021). Fatal poisoning of pregnant women by peganum harmala L.: A case reports. *Annals of Medicine & Surgery*, *68*. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2021.102649>

## H

- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, *249*((22)), 7130–7139. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8)
- Hall, C. S. (1934). Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*, *18*(3), 385–403. <https://doi.org/10.1037/h0071444>
- Hammiche, V., Merad, R., Azzouz, M., & GOETZ, P. (2013). Plantes toxiques à usage médicamenteux du pourtour méditerranéen. In *Collection Phytothérapie pratique*. Springer Paris.
- Harro, J. (2018). Animals, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents and why. *Behavioural Brain Research*, *352*, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.10.016>
- Hashikawa-Hobara, N., Otsuka, A., Ishikawa, R., & Hashikawa, N. (2019). Roman chamomile inhalation combined with clomipramine treatment improves treatment-resistant depression-like behavior in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *118*, 109263. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109263>
- He, D., Wu, H., Wei, Y., Liu, W., Huang, F., Shi, H., Zhang, B., Wu, X., & Wang, C. (2015). Effects of harmine, an acetylcholinesterase inhibitor, on spatial learning and memory of APP/PS1 transgenic mice and scopolamine-induced memory impairment mice. *European Journal of Pharmacology*, *768*, 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.10.037>
- Herraiz, T., González, D., Ancín-Azpilicueta, C., Arán, V. J., & Guillén, H. (2010).  $\beta$ -

Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 839–845. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.12.019>

Horii, Y., McTaggart, I., & Kawaguchi, M. (2018). Testing Animal Anxiety in Rats: Effects of Open Arm Ledges and Closed Arm Wall Transparency in Elevated Plus Maze Test. *Journal of Visualized Experiments*, 136. <https://doi.org/10.3791/56428>

Hould, R. (1984). Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. *Ed Maloine .*, 19(21), 225–227.

## I

Iranshahy, M., Fazly Bazzaz, S., Haririzadeh, G., Abootorabi, B. Z., Mohamadi, A. M., & Khashyarmansh, Z. (2019). Chemical composition and antibacterial properties of *Peganum harmala* L. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 9(6), 530–537. <https://doi.org/10.22038/AJP.2019.13382>

## J

Jabri, M.-A., Limas-Nzouzi, N., Eto, B., & Sebai, H. (2020). Chamomile decoction modulates water, neutral NaCl and electrogenic ionic exchange in mice intestinal epithelium. *Food Bioscience*, 35, 100608. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100608>

Jabri, M.-A., Sakly, M., Marzouki, L., & Sebai, H. (2017). Chamomile (*Matricaria recutita* L.) decoction extract inhibits in vitro intestinal glucose absorption and attenuates high fat diet-induced lipotoxicity and oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.043>

Janmejai K.S., S. E. and G. S. (2010). Chamomile : A herbal medicine of the past with a bright future. *Mol. Med. Report*, 1, 3(6), 896–901.

Jiang, B., Meng, L., Zou, N., Wang, H., Li, S., Huang, L., Cheng, X., Wang, Z., Chen, W., & Wang, C. (2019). Mechanism-based pharmacokinetics-pharmacodynamics studies of harmine and harmaline on neurotransmitters regulatory effects in healthy rats: Challenge on monoamine oxidase and acetylcholinesterase inhibition. *Phytomedicine*, 62, 152967. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152967>

Jiang, P., Dang, R.-L., Li, H.-D., Zhang, L.-H., Zhu, W.-Y., Xue, Y., & Tang, M.-M. (2014). The Impacts of Swimming Exercise on Hippocampal Expression of Neurotrophic Factors in Rats Exposed to Chronic Unpredictable Mild Stress. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/729827>

## K

- Kaplan, L. A. (1984). Glucose. *Clin Chem*, 30, 1032–1036.
- Khan, S. S., Najam, R., Anser, H., Riaz, B., & Alam, N. (2014). Chamomile tea: herbal hypoglycemic alternative for conventional medicine. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(5 Spec no), 1509–1514. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25176245>
- Kolodziejczyk-Czepas, J., Bijak, M., Saluk, J., Ponczek, M. B., Zbikowska, H. M., Nowak, P., Tsirigotis-Maniecka, M., & Pawlaczyk, I. (2015). Radical scavenging and antioxidant effects of Matricaria chamomilla polyphenolic–polysaccharide conjugates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1152–1158. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.032>
- Konaté, S. (2023). *Etude des intoxications alimentaires chez les riverains du fleuve Niger*. UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO.
- Kong, Y., Wang, T., Wang, R., Ma, Y., Song, S., Liu, J., Hu, W., & Li, S. (2017). Inhalation of Roman chamomile essential oil attenuates depressive-like behaviors in Wistar Kyoto rats. *Science China Life Sciences*, 60(6), 647–655. <https://doi.org/10.1007/s11427-016-9034-8>

## L

- LAMCHOURI, F. (2014). Antitumor properties and toxicity effects of Peganum harmala L. (Zygophyllaceae). *Plant Science Today*, 1(4), 192–195. <https://doi.org/10.14719/pst.2014.1.4.71>
- Laribi, H., Ghennai, B., & Mayache, B. E. (2022). *Plantes toxiques: caractéristiques et effets sur la santé*. Université de Jijel.
- Li, S., Cheng, X., & Wang, C. (2017). A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of the genus Peganum. *Journal of Ethnopharmacology*, 203, 127–162. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.03.049>
- Li, S., Yu, Y., Chen, J., Guo, B., Yang, L., & Ding, W. (2016). Evaluation of the Antibacterial Effects and Mechanism of Action of Protocatechualdehyde against *Ralstonia solanacearum*. *Molecules*, 21(6), 754. <https://doi.org/10.3390/molecules21060754>
- Liu, L., Zhao, T., Cheng, X. M., Wang, C. H., & Wang, Z. T. (2013). Characterization and determination of trace alkaloids in seeds extracts from Peganum harmala linn. Using LC-ESI-MS and HPLC. *Acta Chromatographica*, 25(2), 221–240. <https://doi.org/10.1556/AChrom.25.2013.2.2>
- Liu, W., Wang, Y., He, D., Li, S., Zhu, Y., Jiang, B., Cheng, X., Wang, Z., & Wang, C. (2015). Antitussive, expectorant, and bronchodilating effects of quinazoline alkaloids (±)-vasicine, deoxyvasicine, and (±)-vasicinone from aerial parts of Peganum harmala L. *Phytomedicine*, 22(12), 1088–1095. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.08.005>
- Loha, M., Mulu, A., Abay, S. M., Ergete, W., & Geleta, B. (2019). Acute and Subacute Toxicity of Methanol Extract of Syzygium guineense Leaves on the Histology of the Liver and Kidney and Biochemical Compositions of Blood in Rats. *Evidence-Based*

*Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1–15.  
<https://doi.org/10.1155/2019/5702159>

## M

- Magdy, N., Salama, M., Alsaedy, Y., & El-Sayed, G. (2020). Ameliorative effects of Pergamum harmala seed extract on obese diabetic rats. *Mansoura Veterinary Medical Journal*, 21(3), 116–120. <https://doi.org/10.21608/mvmj.2020.21.319>
- Mannaa, F., Ibrahim, N., Ibrahim, S., Abdel-Wahhab, K., Hassan, N., & Mohammed, S. (2015). Preventive role of chamomile flowers and fennel seeds extracts against liver injury and oxidative stress induced by an immunosuppressant drug in rats. *Hepatoma Research*, 1(3), 125. <https://doi.org/10.4103/2394-5079.167375>
- Martin, P. Y. (2018). *Le récepteur 5-HT6, une nouvelle cible pour le traitement des douleurs neuropathiques*. Université Clermont Auvergne.
- Matallah, A; Hamri, A; Bairi, A, Tahar, A. & T. A. (2015). Anxiolytic effects of harmine injection on elevated plus-maze behavior in male Wistar rats. *Global Veterinaria*, 15(6), 605-612. <https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2015.15.06.101156>
- Matsuura, H. N., & Fett-Neto, A. G. (2015). Plant Alkaloids: Main Features, Toxicity, and Mechanisms of Action. In *Plant Toxins* (pp. 1–15). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6728-7\\_2-1](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6728-7_2-1)
- Mehdi, L. A., & Hasoon, A. M. (2020). EVALUATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF AQUEOUS EXTRACT OF MATRICARIA CHAMOMILLA ON KIDNEY AND ACTH HORMONE IN MALE MICE. *Plant Archives*, 20(2), 7635–7638.
- Mie, A., Andersen, H. R., Gunnarsson, S., Kahl, J., Kesse-Guyot, E., Rembiałkowska, E., ... & Grandjean, P. (2017). Human health implications of organic food and organic agriculture: a comprehensive review. *Environmental Health*, 16(1), 1-22.
- Mohamed, A. H. S., AL-Jammali, S. M. J., & Naki, Z. J. (2013). Effect of repeated administration of Peganum harmala alcoholic extract on the liver and kidney in Albino mice: a histo-pathological study. *J Sci Innov Res*, 2(3), 585-597.
- Moloudizargari, M., Mikaili, P., Aghajanshakeri, S., Asghari, M., & Shayegh, J. (2013). Pharmacological and therapeutic effects of Peganum harmala and its main alkaloids. *Pharmacognosy Reviews*, 7(14), 199. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.120524>
- Montanari, M., & Flandrin, J. L. (2016). *Histoire de l'alimentation*. Fayard.
- Muhi-eldeen, Z., Al-Shamma, K. J., Al-Hussainy, T. M., Al-Kaissi, E. N., Al-Daraji, A. M., & Ibrahim, H. (2008). Acute toxicological studies on the extract of Iraqi Peganum harmala in rats. *European Journal of Scientific Research*, 22(4), 494–500.

## N

- Naim, M. R., Sulastri, S., & Hadi, S. (2019). Gambaran hasil pemeriksaan kadar kolesterol

- pada penderita hipertensi di rsud syekh yusuf kabupaten gowa. *Jurnal Media Laboran*, 9(2), 33–38.
- Naito., K. (1984). Cholesterol. In: Kaplan L A and Pesce A J. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton: The C. V. Mosby Company., 1194-11206.
- Nakagawa, Y., Suzuki, T., Ishii, H., Ogata, A., & Nakae, D. (2010). Mitochondrial dysfunction and biotransformation of  $\beta$ -carboline alkaloids, harmine and harmaline, on isolated rat hepatocytes. *Chemico-Biological Interactions*, 188(3), 393–403. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.09.004>
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2012). Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3), 311–335. <https://doi.org/10.1021/np200906s>
- Nita, M., & Grzybowski, A. (2016). The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–23. <https://doi.org/10.1155/2016/3164734>

## O

- Ohkawa H, Ohishi N, Y. K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95(2), 351–358.
- Ozcan, T., Akpınar-Bayızit, A., Yılmaz-Ersan, L., & Delikanlı, B. (2014). Phenolics in Human Health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5), 393–396. <https://doi.org/10.7763/IJCEA.2014.V5.416>

## P

- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14(3), 149–167. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7)
- Plassart., L. (2015). *Sarcocephalus latifolius (Sm.) Bruce : études botanique, chimique et pharmacologique*. Sciences pharmaceutiques. UNIROUEN UFR Santé - UNIROUEN - UFR Santé.
- Pradeep Kumar, M. R., Joshi, S. D., & Kulkarni, V. H. (2014). Phytochemical screening and evaluation of antibacterial, antitubercular activities of *Peganum harmala* Linn., seeds. *International J Res Pharma Sci*, 5(2), 99-103.
- Prasanna, R., Ashraf, E. A., & Essam, M. A. (2017). Chamomile and oregano extracts synergistically exhibit antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and renal protective effects in alloxan-induced diabetic rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 95(1), 84–92. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0189>

## Q

- Qureshi, M. N., Stecher, G., & Bonn, G. K. (2019). Determination of total polyphenolic compounds and flavonoids in *Matricaria chamomella* flowers. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32(5), 2163–2165. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31813883>

## R

- Rahimi Shourmasti, F., Goudarzi, I., Lashkarbolouki, T., Abrari, K., Elahdadi Salmani, M., & Goudarzi, A. (2012). Effects of riluzole on harmaline induced tremor and ataxia in rats: Biochemical, histological and behavioral studies. *European Journal of Pharmacology*, 695(1–3), 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.08.014>
- Réus, G. Z., Stringari, R. B., Gonçalves, C. L., Scaini, G., Carvalho-Silva, M., Jeremias, G. C., Jeremias, I. C., Ferreira, G. K., Streck, E. L., Hallak, J. E., Zuardi, A. W., Crippa, J. A., & Quevedo, J. (2012). Administration of Harmine and Imipramine Alters Creatine Kinase and Mitochondrial Respiratory Chain Activities in the Rat Brain. *Depression Research and Treatment*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2012/987397>
- Rezzagui, A., Merghem, M., Derafa, I., & Dahamna, S. (2020). Acute and Sub-acute Toxic Effects of Algerian *Peganum harmala* L. Crud Extract. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(2), 115–121. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i2.3920>

## S

- Sebai, H., Jabri, M.-A., Souli, A., Hosni, K., Rtibi, K., Tebourbi, O., El-Benna, J., & Sakly, M. (2015). Chemical composition, antioxidant properties and hepatoprotective effects of chamomile (*Matricaria recutita* L.) decoction extract against alcohol-induced oxidative stress in rat. *General Physiology and Biophysics*, 34(03), 263–275. [https://doi.org/10.4149/gpb\\_2014039](https://doi.org/10.4149/gpb_2014039)
- Seibenhener, M. L., & Wooten, M. C. (2015). Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *Journal of Visualized Experiments*, 96. <https://doi.org/10.3791/52434>
- Senhaji, S., Lamchouri, F., Boulfia, M., Lachkar, N., Bouabid, K., & Toufik, H. (2022). Mineral composition, content of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antibacterial activities of aqueous and organic extracts of the seeds of *Peganum harmala* L. *South African Journal of Botany*, 147, 697–712. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.03.005>
- Sermoz., M. (2015). *Troubles anxieux et accompagnement à l'officine : intérêts de la phytothérapie et de la micronutrition*. Sciences pharmaceutiques. UGA UFRP -

Université Grenoble Alpes - UFR Pharmacie.

- Shabani, M., & Naderi, R. (2022). Phytohormone abscisic acid elicits positive effects on harmaline-induced cognitive and motor disturbances in a rat model of essential tremor. *Brain and Behavior*, 12(5). <https://doi.org/10.1002/brb3.2564>
- Smith, K. L., Ford, G. K., Jessop, D. S., & Finn, D. P. (2013). Behavioural, neurochemical and neuroendocrine effects of the endogenous  $\beta$ -carboline harmine in fear-conditioned rats. *Journal of Psychopharmacology*, 27(2), 162–170. <https://doi.org/10.1177/0269881112460108>
- Subhdara, Dhyani Jakhmola, K., & Panthari, D. (2024). A comprehensive review of physiological and phytochemical adaptations in German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) in response to abiotic stress and factors. *Plant Science Today*. <https://doi.org/10.14719/pst.2833>

## T

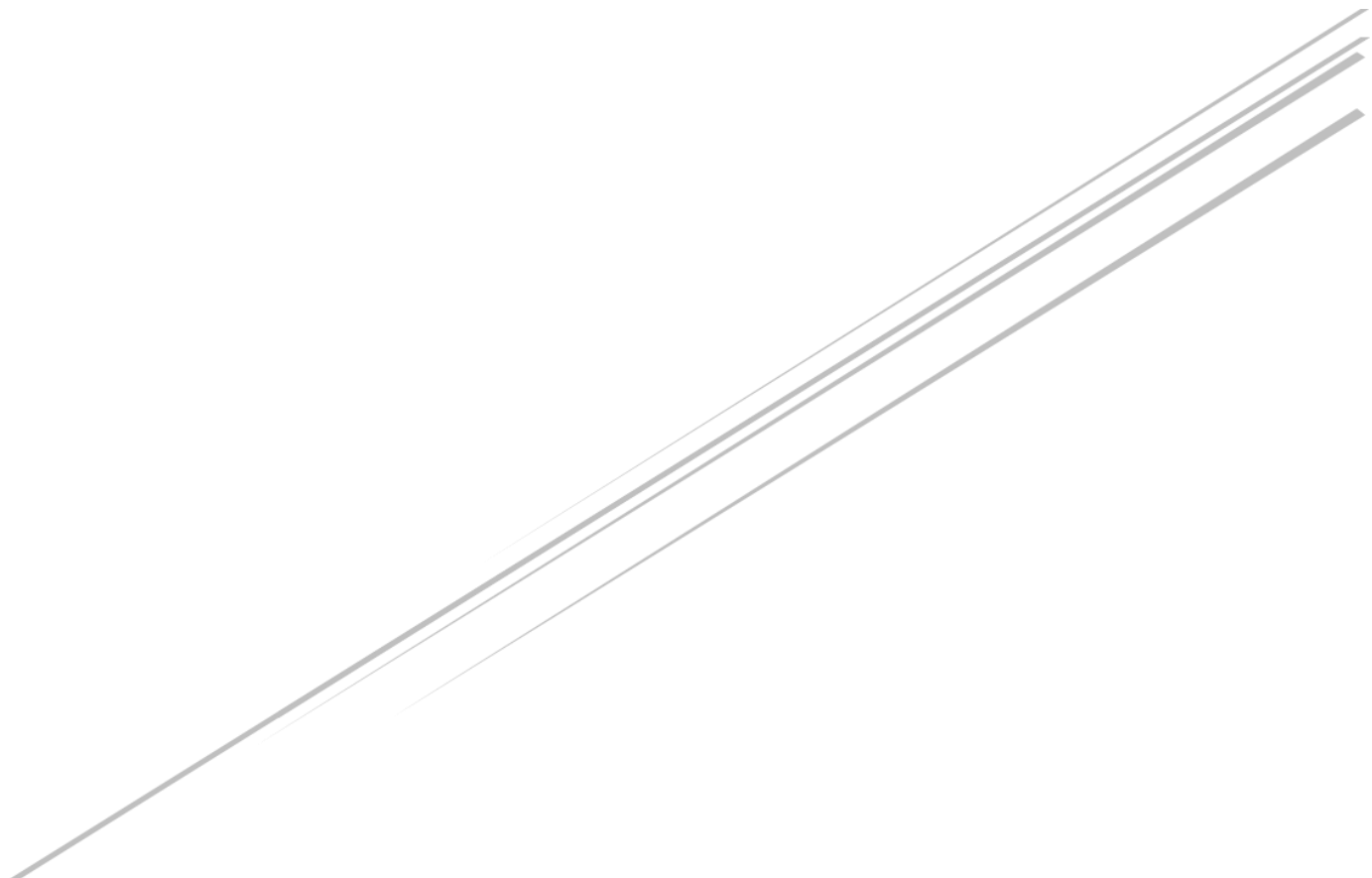
- Tadmori, I., Seddiki, S., Querrach, I., & Hida, M. (2022). Les intoxications aiguës aux urgences pédiatriques. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 35(5), 244–251. <https://doi.org/10.1016/j.jpp.2022.05.003>
- Tassé, V. (2019). *Quelle est la relation entre l'attachement, l'anxiété, la dépression et la qualité de vie chez les patients souffrant de maladies cardiaques?* Université du Québec en Outaouais.
- Thon, B., Albaret, J.-M., Andrieux, M., & Ille, A. (2016). Processus cognitifs et apprentissage des habiletés motrices. *Revue de Neuropsychologie*, Volume 8(2), 87–92. <https://doi.org/10.1684/nrp.2016.0380>
- Tidjani, S., & Rhouati, S. (2016). *Etude phytochimique et évaluation biologique de l'espèce senecio delphinifolius Vahl*. Université Frères Mentouri-Constantine 1.
- Trea, F., Tichati, L., & Ouali, K. (2022). Protective effect of *Thymus munbyanus* aqueous extract against 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(3), 1109–1118. <https://doi.org/10.1080/01480545.2020.1809669>

## W

- Wang, Y., Wang, H., Zhang, L., Zhang, Y., Sheng, Y., Deng, G., Li, S., Cao, N., Guan, H., Cheng, X., & Wang, C. (2019). Subchronic toxicity and concomitant toxicokinetics of long-term oral administration of total alkaloid extracts from seeds of *Peganum harmala* Linn: A 28-day study in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 238, 111866. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111866>
- Weckbecker G, C. J. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depended mouse leukaemia L 1210 cells n vitro. *Cancer Lett*, 40, 257–264.

# Z

- Zeggwagh, A. A., Lahlou, Y., & Bousliman, Y. (2013). Enquete sur les aspects toxicologiques de la phytotherapie utilisee par un herboriste à Fes, Maroc. *Pan African Medical Journal*, *14*. <https://doi.org/10.11604/pamj.2013.14.125.1746>
- Zhanaidarova, G. U., Yessimova, R. Z., Nurseitova, K. T., Seidakhmetova, R. B., Arystan, L. I., Adekenov, S. M., Nauryzov, N. N., & Berikbaeva, B. K. (2019). Experimental research of Harmine hydrochloride effect on internal organs. *Bangladesh Journal of Medical Science*, *18*(3), 598–606. <https://doi.org/10.3329/bjms.v18i3.41635>
- Zhang, H., Sun, K., Ding, J., Xu, H., Zhu, L., Zhang, K., Li, X., & Sun, W. (2014). Harmine induces apoptosis and inhibits tumor cell proliferation, migration and invasion through down-regulation of cyclooxygenase-2 expression in gastric cancer. *Phytomedicine*, *21*(3), 348–355. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.09.007>
- Zhang, M., Liu, Y., Zhao, M., Tang, W., Wang, X., Dong, Z., & Yu, S. (2017). Depression and anxiety behaviour in a rat model of chronic migraine. *The Journal of Headache and Pain*, *18*(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s10194-017-0736-z>
- Zhu, Z., Zhao, S., & Wang, C. (2022).  $\beta$ -Carboline Alkaloids from *Peganum harmala* Inhibit *Fusarium oxysporum* from *Codonopsis radix* through Damaging the Cell Membrane and Inducing ROS Accumulation. *Pathogens*, *11*(11), 1341. <https://doi.org/10.3390/pathogens11111341>.



# **ANNEXES**

## Préparation des réactifs pour le dosage du stress oxydatif

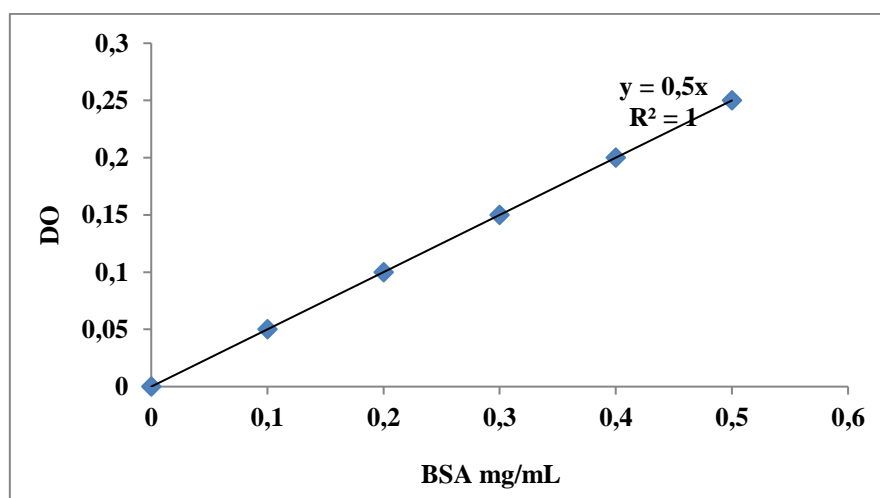
### 1. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

- Solution d'albumine de sérum bovin (BSA) (1 mg/mL) : Dissoudre 5 mg BSA dans 5 ml d'eau distillée.
- Réactif de Bradford : Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50 mL d'éthanol (95 %). Agiter par l'agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 mL d'acide orthophosphorique (85 %) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1 L de solution).

Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1 mois au maximum à une température de 4 °C et à l'abri de la lumière.

#### ✓ Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines

<b>BSA (mL)</b>	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
<b>DO à 595 nm</b>	0	0,05	0,1	0,15	0,20	0,25



### 2. Dosage du glutathion

- Solution EDTA (0,02 M) : dissoudre 5,613 g EDTA dans 750mL d'eau distillée.
- Tampon Tris + EDTA (0,4 M Tris + 0,02 M EDTA), pH 9,6 : dissoudre 48,45 g Tris + 5,84 g EDTA dans 1000 ml d'eau.
- Solution DTNB (0,01 M) : dissoudre 200 mg DTNB dans 50 mL de méthanol absolu.
- Solution d'acide salicylique (0,25 %) : dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100 mL d'eau distillée.

### 3. Dosage du MDA

- Solution TCA (20 %) : dissoudre 20 g de TCA dans 100 mL d'eau distillée
- Solution Tris : dissoudre 0,15 g de tris dans 50 mL d'eau distillée
- Solution TBA (0,67 %) : dissoudre 0,33 g de TBA dans 50 mL de la solution tris

### 4. Dosage de la glutathion peroxydase (GPx)

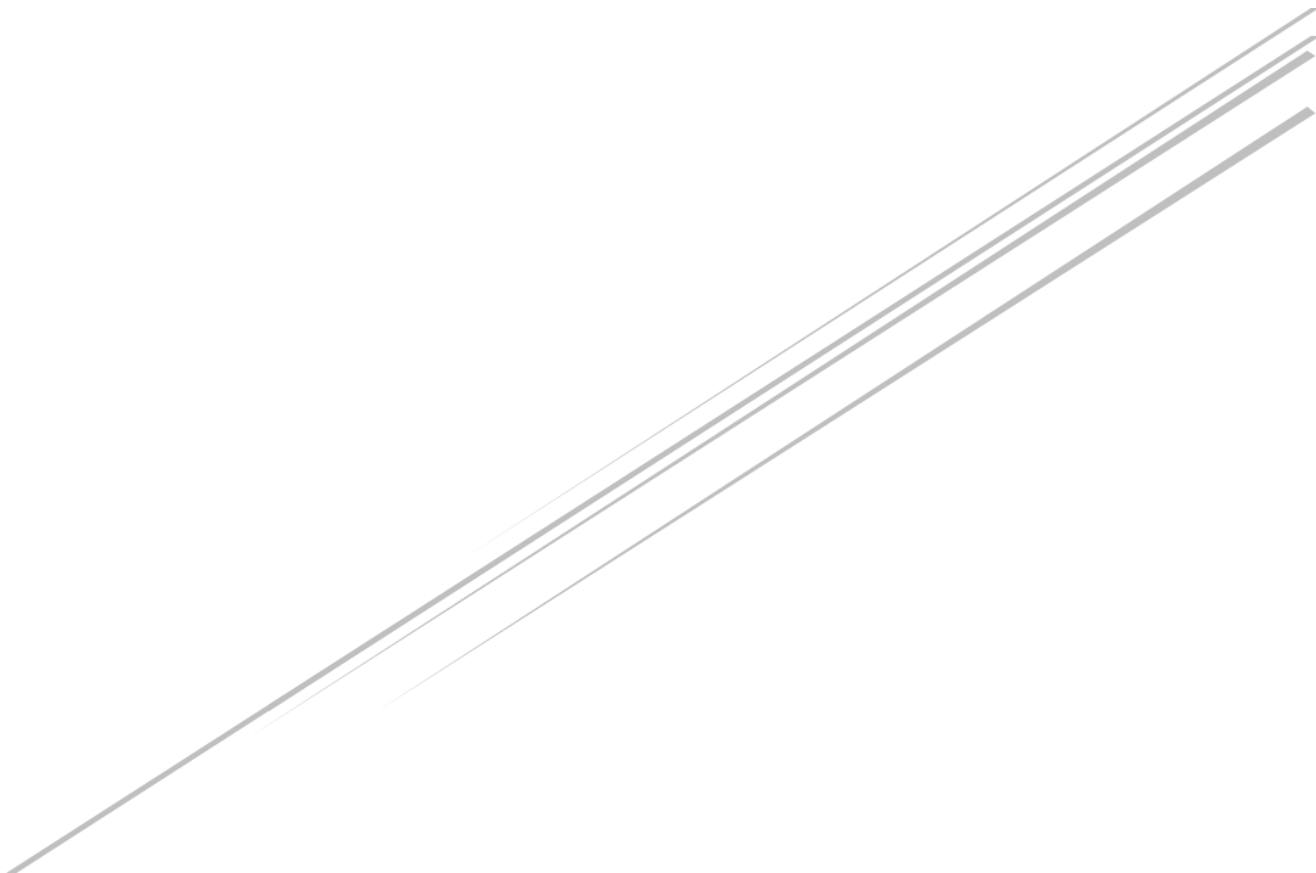
- Solution TBS : Tris (50 mM, NaCl (150 mM) : dissoudre 8,775g NaCl dans 1L d'eau distillée, puis poser 6,057g Tris et compléter le volume à 1L par la solution NaCl (150 mM) et ajuster le pH à 7,4 en ajoutant HCL ou NaOH.
- Solution du GSH (0,1 mM) : dissoudre 3,073 mg GSH dans 100 mL d'eau distillée.
- Solution TCA (1 %) : dissoudre 1g TCA dans 100 mL d'eau distillée.
- Solution DTNB (1,0 mM) : dissoudre 100 mg DTNB dans 250 mL de méthanol absolu.

### 5. Dosage de la glutathion-S-transférase (GST)

- Solution CDNB (0,02 M) : dissoudre 202,55 mg CDNB dans 50 mL d'éthanol absolu.
- Solution GSH (0,1 M) : dissoudre 153,65 mg GSH dans 50 mL d'eau distillée.

### 6. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE)

- Tampon phosphate 0,1M, PH 7,4 :
  - ✓ Solution A, dissoudre 1,7418 g de  $K_2HPO_4$  dans 100 ml d'eau distillé
  - ✓ Solution A, dissoudre 1,3609 g de  $KH_2PO_4$  : dans 100 ml d'eau distillé
- Mélange 5 ml de la solution A avec 91,5 ml de la solution B
- TNB /  $NaHCO_3$  : 141  $NaHCO_3$  150% (15 mg dans 10ml de tampon phosphate)
- DTNB : 39,6 mg dans 10 ml (tampon phosphate /  $NaHCO_3$ ).
- Acétylthiocholine : 13,031 g dans 100 ml.



**PRODUCTION  
SCIENTIFIQUE**

## Production scientifique

### ➤ Publication

**Hamida, Y. I.**, Habbachi, W., Chouba, I., Tabirca, A. L., Stoica, A. (2024). The Potential Impact of *Matricaria Chamomilla* Ethanolic Extract on Lipid Profiles and Serum Antioxidant Status in Harmine-Induced Oxidative Stress in *Wistar* Rats. *FEB-FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN*. Vol, 33, 83- 96.

Chaima, S., Amina, D., Fella, C., **Islam, H. Y.**, Amira, B., Rania, S., & Abdelmadjid, B. (2023). Assessment of Cognitive Abilities and Impact of Parental Intellectual Level in ASD Children. *UTTAR PRADESH JOURNAL OF ZOOLOGY*, 35-40.

Soual, R., Amrani, L. K., Baali, B., **Hamida, Y. I.**, Smili, C., & Bairi, A. (2023). Assessment of Sub-Acute Oral Administration of An Aqueous Extract of *Drimia Maritima's* Bulb and Leaves on Liver and Kidney Function in Albino *Wistar* Rats. *FEB-FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN*. Vol, 32, 3343- 3354.

### ➤ Communications

#### Communications internationales

**Youcef Islam Hamida.**, Nour el Imene Boublata, Abir Bouzar & Wafa Habbachi. Perturbation du comportement des rats *Wistar* par l'utilisation des molécules bioactives d'ortie. Séminaire International sur l'Eau et l'Environnement (ICWE 2022). Université de Mascara. Le 25- 26 septembre 2022. **(Communication orale)**

Boublata Nour El Imene., Saadane Fatma Zohra., Habbachi Sarra., **Hamida Youcef Islem.**, Habbachi Wafa., Benhissen Saliha., & Tahraoui Abedkrim. Etude de l'effet des extraits aqueux de la plante spontanée *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) sur le comportement sexuel chez le rat *Wistar*. Séminaire Internationale sur la Biodiversité, Environnement et Santé. Université de Tlemcen. Le 21- 22 septembre 2021. **(Communication orale)**

Boublata N. I., **Hamida Y. I.**, Habbachi S., Saadane F. Z., Habbachi W., Benhissen S., & Tahraoui A. Utilisation des molécules bioactives issues de l'extraction de la plante saharienne *Cleome arabica* (Capparidaceae) sur le profil lipidique chez le rat *Wistar*. Séminaire International des sciences de la nature et de la vie (INDNS 2022). Université de Sétif. Le 1-2 mars 2022. **(Communication orale)**

Nour El Imene Boublata., **Youcef Islem Hamida.**, Fatma Zohra Saadane., Sarra Habbachi., Wafa Habbachi., Saliha Benhissen., Khallel Rebbas., & Abedkrim Tahraoui. Contribution à l'étude de l'effet antidiabétique de l'extrait éthanolique de *Cleome arabica* chez le rat *Wistar*. Séminaire International sur la Valorisation de Plantes Alternatives et Terres Dégradées et Marginales (VAPDML). Université El Oued. Le 10-11 mai 2022. **(Communication affichée)**

### Communications nationales

**Hamida Youcef Islam.,** Boublata Nour el Imene., Chouba Ibitissem., Habbachi Wafa., & Bairi Abdelmadjid. Evaluation de l'extrait éthanolique de *Matricaria recutita* (Camomille) : effet sur le profil lipidique, la peroxydation des lipides hépatique chez les rats *Wistar*. Séminaire National Sciences Appliquées et Innovation (DD-ASI), Université d'Annaba, le 15- 16 novembre 2023. **(Communication affichée)**

**Youcef Islam Hamida.,** Nour el Imene Boublata, Ibtissem Chouba., Wafa Habbachi., Abdelmadjid Bairi. Valorisation de la plante médicinale *Matricaria recutita* : caractéristiques biologiques de la Camomille. Séminaire National d'Ethnobotanique, Ethnobiologie et Valorisation des Substances Naturelles, Université d'Alger 1. Le 25 novembre 2023. **(Communication affichée)**

Soual Rania., **Hamida Youcef Islam.,** Baali Bnochra., & Kirane-Amrani Leila. Composition phénolique et valorisation de l'activité biologique de l'extrait de feuilles de la plante spontanée *Drimia maritima* (Asparagaceae). Séminaire National d'Ethnobotanique, Ethnobiologie et Valorisation des Substances Naturelles, Université d'Alger 1, le, 25 novembre 2023. **(Communication affichée)**

Soual Rania., **Hamida Youcef Islam.,** Baali Bochra., & Kirane-Amrani Leila. Caractéristiques chimiques et activité antioxydante de l'extrait aqueux de bulbe de la plante spontanée *Drimia maritima*. Séminaire National Sciences Appliquées et Innovation (DD-ASI), Université d'Annaba, le 15- 16 novembre 2023. **(Communication affichée)**

Boublata Nour El Imene., Saadane Fatma Zohra., **Hamida Youcef Islem.,** Habbachi Sarra., Habbachi Wafa., Benhissen Saliha., & Tahraoui Abedkrim. Comparaison entre les effets toxicologiques de deux extraits de *Cleome arabica* sur le stress du rat *Wistar* : effet sur les paramètres biochimiques. Séminaire Nationale de Toxicologie « Compléments alimentaires ». Université d'Annaba. Le 16 et 17 mars 2022. **(Communication affichée)**

Boublata Nour El Imene., **Hamida Youcef Islem.,** Saadane Fatma Zohra., Habbachi Sarra., Habbachi Wafa., Benhissen Saliha., & Tahraoui Abedkrim. Etude expérimentale des effets biologiques de l'extrait éthanolique de la plante spontanée *Cleome arabica* chez le rat *Wistar*. Séminaire National « Phytodiversité et Valorisation ». Université de Saida. Le 26 mars 2022. **(Communication orale)**

Boublata Nour El Imene., **Hamida Youcef Islem.,** Habbachi Sarra., Saadane Fatma Zohra., Habbachi Wafa., Benhissen Saliha., & Tahraoui Abedkrim. Impacte des extraits éthanoliques de la plante saharienne *Cleome arabica* (Capparidaceae) chez le rat *Wistar*. Séminaire National sur La Valorisation des Ressources Naturelles et de l'Environnement (VRNE 2022). Université de Sétif. Le 30 mars 2022. **(Communication orale)**

Boublata Nour El Imene., **Hamida Youcef Islem.,** Habbachi Sarra., Saadane Fatma Zohra.,

Habbachi Wafa., Benhissen Saliha., & Tahraoui Abedkrim. Impacts des extraits de plantes médicinales douées d'activités biologiques : effet des extraits éthanolique de la plante saharienne *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) sur le rat *Wistar*. Séminaire Nationale sur L'Agroalimentaire et Microbiologie de L'Environnement (AAME 2022). Université de Khemis Miliana. Le 11 mai 2022. (**Communication orale**)

Boublata Nour El Imene., Habbachi Sarra., **Hamida Youcef Islem.**, Saadane Fatma Zohra., Habbachi Wafa., Saliha Benhissen., & Tahraoui Abedkrim. Contribution à l'étude de l'effet d'un biopesticide de l'extrait éthanolique de *Cleome arabica* chez le rat *Wistar*. Séminaire National sur l'Agriculture Durable et la Biodiversité. Université de Skikda. Le 11-12 mai 2022. (**Communication affichée**)

Nour El Imene Boublata., **Youcef Islem Hamida.**, Fatma Zohra Saadane., Sarra Habbachi., Wafa Habbachi., Saliha Benhissen., Khallef Rebbas., & Abedkrim Tahraoui. Evaluation de l'effet biocide de l'extrait éthanolique de la plante spontanée *Cleome arabica* L du Sahara septentrional sur le comportement sexuel chez le rat *Wistar*. Séminaire National de Protection Des Plantes et Preservation des Milieux Naturels Steppiques (CNPPPMNS). Université de Mila. Le 16-17 mai 2022. (**Communication orale**)

Boublata Nour El Imene., **Hamida Youcef Islem.**, Habbachi Sarra., Saadane Fatma Zohra., Habbachi Wafa., Benhissen Saliha., & Tahraoui Abedkrim. Impact d'un pesticide naturel à base d'une plante spontanée *Cleome arabica* L sur le comportement du rat *Wistar*. Séminaire National sur la Diversité des Ressources Végétales Locales dans les Régions Arides et Semi-Arides : Application Et Perspectives. Université de Ouargla. Le 23 mai 2022. (**Communication orale**)

# THE POTENTIAL IMPACT OF *Matricaria Chamomilla* ETHANOLIC EXTRACT ON LIPID PROFILES AND SERUM ANTIOXIDANT STATUS IN HARMINE-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN WISTAR RATS

Youcef Islam Hamida<sup>1,\*</sup>, Wafa Habbachi<sup>1</sup>, Ibtissem Chouba<sup>1</sup>, Alina Iuliana Tabirca<sup>2</sup>, Alexandru Stoica<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Applied Neuroendocrinology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Sciences, PB 12 El-Hadjar, Badji Mokhtar Annaba University, 23000 Annaba, Algeria

<sup>2</sup>Faculty of Economics, Valahia University of Targoviste, 130004 Targoviste, Romania

<sup>3</sup>Faculty of Environmental Engineering and Food Science, Valahia University of Targoviste, Romania

## ABSTRACT

This study focuses on the effects of harmine (H), an alkaloid derived from the *Peganum harmala* plant known to have harmful effects on rats' liver, kidneys, and oxidative stress. The study examines the preventive benefits of using ethanolic extract of *Matricaria chamomilla* (EEC). Six groups (n = 8) of rats were created. Group 1 (control); Group 2 received a single injection of H (40 mg/kg); Group 3 received EEC (200 mg/kg); Group 4 received EEC (500 mg/kg); Groups 5 and 6 received H (40 mg/kg) and EEC (200 mg/kg) or (500 mg/kg) for 21 days; all groups were subjected to stress via the forced swim test. According to the findings, H caused a rise in the weight of the body, liver, and kidneys, whereas EEC therapy showed a strong protective impact on organ weights. Furthermore, H treatment resulted in a marked rise in serum total cholesterol and malondialdehyde (MDA) levels, along with a marked fall in the liver and kidney's total antioxidant capacity and reduced glutathione (GSH) content. Furthermore, EEC treatment mitigated all the negative effects of H treatment. Microscopic examination of the liver and renal tissues along with these parameters was conducted. Nevertheless, the data did not demonstrate any appreciable alterations in organ morphology or structure following H and EEC therapy. Considering its potent anti-free radical activity against H-induced oxidative effects in the liver and kidney, it may be inferred that MC has a potential antioxidant effect.

## KEYWORDS:

*Matricaria chamomilla*, Ethanolic extract, Harmine, Biochemical parameters, Oxidative stress, histology

## INTRODUCTION

*Peganum harmala* L., often called *Harmal* in Algeria, is a member of the *Zygophyllaceae* family

and is found growing wild mostly in the Mediterranean area, although it is also found in Central Asia and North Africa [1]. It is a shrub reaching a height of one meter, it has white blooms, short, spreading roots, and capsules that hold many seeds [2]. These seeds are recognized for having a larger concentration of  $\beta$ -carboline alkaloids than other plant components, including harman, harmine, and harmaline. However, they also have modest levels of polyphenols [3], flavonoids [4], and saponins [5]. Due to their many biological and pharmacological properties, such as their anticancer activity [6], ability to cure parkinsonism [7], and ability to treat Alzheimer's disease [8], these components have garnered interest in recent study. Nonetheless, a few investigations have revealed that these seeds' alkaloid content is what causes both their positive and harmful effects [9]. Indeed, harmine is extensively found as a naturally occurring product in many plants and is recognized to be the primary  $\beta$ -carboline alkaloid extracted from *P. harmala* seeds [10]. The assessment of this alkaloid, both in vivo and in vitro, reveals harmful consequences after overloading [11]. Furthermore, several studies have drawn attention to harmine intoxication of people and animals [12], which is characterized by changes in renal and hepatic function in humans and rats, arterial hypotension, discomfort and digestive issues, and anemia [13]. Research has demonstrated that harmine interacts with several cell surface receptors [14].

Herbal medicine is widely recognized as the most prevalent form of medication worldwide. Plants offer a myriad of phytochemicals that can be harnessed to treat and prevent diverse illnesses while providing the body with essential natural antioxidants [15]. The *Asteraceae* family includes *Matricaria chamomilla*, commonly known as *Matricaria recutita* L., or German chamomile. It is among the therapeutic herbs that have undergone the greatest scientific testing. Studies conducted in vivo have demonstrated the preventive impact of *M. chamomilla* extracts on decreased oxidative stress [16], renal function [16], [17], stomach function [18], and

liver function [19]. This is because of its anti-diabetic [20] and antioxidant [21] qualities. These biological uses are connected to the chemical elements of it. German chamomile is really reported to have a high concentration of active compounds, including tannins, polysaccharides, spiroethers, coumarins, terpenoids, flavonoids and polyphenols [22]. Furthermore, plants naturally contain polyphenol, which is known to efficiently control various physiological and molecular processes, including energy metabolism [23].

The goal of the current investigation was to clarify the capacity of *M. chamomilla* ethanolic extract (EEC) to lessen the adverse effects and oxidative stress that harmine injections caused in the liver and kidney by using biochemical and histological analyses on albino rats.

## **MATERIALS AND METHODS**

**Chemicals.** Harmine (7-methoxy-1-methyl- $\beta$ -carboline) is a natural alkaloid belonging to the  $\beta$ -carboline family, found in the seeds of the *Peganum harmala* plant. It was purchased from Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA. The product has a purity of  $\geq 98\%$ . In our experimental study, 9.6 mg of harmine was dissolved in a 2% acetic acid (AcOH) solution and 0.9% sodium chloride (NaCl) solution and then injected into the peritoneum of the animal in the selected groups.

**Vegetal material.** *Matricaria chamomilla* (*M. recutita*) is an aromatic annual plant from the *Asteraceae* family that may reach heights of 10 to 60 cm. The oval, feathery leaves are accompanied by the white, fragrant flowers [24]. The entire *M. chamomilla* plant was bought in March from a business store in Annaba, Algeria's. Prof. REBBAS Khellaf, Department of Biology at the University of M'sila, Algeria verified and authenticated the plant's botanical identity.

**Extract preparation.** Ethanolic extract of *M. chamomilla* (EEC) was prepared by macerating 100 grams of *M. chamomilla* powder, dried and ground to a fine powder using a molinex, in 1 l of 70% ethanol in a ratio of (1:10), under stirring. After 24 hours, the resulting mixture was filtered through Whatman filter paper. The filtrate was concentrated in a vacuum rotary evaporator at 45 °C. In an oven set to 46 °C, the extract that had been produced was dried. The yield was determined as a percentage and refrigerated (4 °C) until usage [25].

**Animals.** 48 male Wistar rats from the Pasteur Institute of Algiers, weighing  $240 \pm 20$  g, were used for this investigation. The animals were kept in cages in groups of eight in a controlled environment (constant temperature  $(25 \pm 3$  °C), humidity  $(50 \pm 5\%)$ ,

and 12-hour light-dark cycle), with unrestricted access to food and drink throughout the experiment. All protocols' methods were carried out between 9:00 AM and 6:00 PM and approved by the Animal Ethics Commission of the UBMA University, Annaba, Algeria.

**Induction of stress.** Stress was induced using the forced swimming test (FST), a behavioral method for evaluating the efficacy of antidepressant treatment [26]. The test's basic premise is the individual placement of each rat in an aquarium that is 30 cm wide and 40 cm high. Each rat had 20 min of stress from day 5 to day 10 after the start of the therapy. Water at a temperature of 25 °C is added to the aquarium until it reaches a height of 35 cm to prevent the rat from scaling the device's edges to escape, forcing it to swim.

**Experimental method.** After two weeks of acclimation, the animals were split into six groups ( $n = 8$ ).

Group I (Control): received only 1 ml of distilled water orally from day 11 of the experiment until day 21.

Group II (H): received 40 mg/kg body weight of harmine by a single intraperitoneal (i.p.) injection on day 1 of the experiment.

Group III (EEC200): received 200 mg/kg body weight of *M. chamomilla* ethaniloque extract orally from day 11 of the experiment until day 21.

Group IV (EEC500): received 500 mg/kg body weight of *M. chamomilla* ethaniloque extract orally from day 11 of the experiment until day 21.

Group V (EEC200 + H): received 40 mg/kg body weight of harmine by intraperitoneal (i.p.) injection only on day 1 of the experiment, then on day 11 received 200 mg/kg body weight of *M. chamomilla* ethaniloque extract orally continuing until day 21.

Group VI (EEC500 + H): received 40 mg/kg body weight of harmine by intraperitoneal (i.p.) injection only on day 1 of the experiment, then on day 11 received 500 mg/kg body weight of *M. chamomilla* ethaniloque extract orally continuing until day 21.

To evaluate the impact of the treatments on the weight gain of the animals, the rats were weighed every day at the same time in the morning for 21 days. Note that 40 mg/kg H was equivalent to the  $DL_{50} / 4$  of the harmine alkaloid discovered by Moloudizargari *et. al.* [27]. According to a predetermined study by Asgharzade *et. al.* [28], the EEC extract dosages were selected.

**Collection and preservation of blood samples.** On day 22 of the experiment, all the rats were sacrificed, and blood was drawn and collected in heparin tubes for biochemical analyses. The rat liver and kidneys were then quickly removed, weighed,

washed with 0.9% saline, and quickly cut into two equal longitudinal slices. One slice was put in a 10% formaldehyde solution for histological analysis. The second slice was wrapped in Parafilm paper and kept at -20 °C until MDA, GSH, GST, GPx antioxidant status was determined.

#### **Glucidic and lipidic metabolism assessment.**

Samples of blood were centrifuged at 3500 rpm for 10 minutes. The obtained serum was used to determine two biochemical parameters, Total cholesterol, and Blood sugar level, using a commercial analyzer (BioSystems S.A. Costa Brava, Spain).

**Protein content.** Following [29], the amount of protein in the liver and kidneys was determined spectrophotometrically at 595 nm using bovine serum albumin as the reference.

**Assessment of oxidative stress and dosage of reduced glutathione (GSH).** The degree of lipid peroxidation (LPO) in the liver and kidneys was assessed spectrophotometrically using the [30] technique, which was based on the color reaction of malondialdehyde (MDA), the derivative of lipid peroxidation, with thiobarbituric acid (TBA). Both organ's homogenate was obtained at a ratio of 1:10 with cold phosphate buffer (0.1 M, pH 7.4) using an ultrasonic mill. In a nutshell, 0.5 ml of homogenate is combined with 0.5 ml of 20% trichloroacetic acid (TCA) and 1 ml of 0.67% thiobarbituric acid (TBA). 4 ml of n-butanol was added following a 15 min incubation period at 100 °C in a water bath. After 15 min of centrifuging at 3000 rpm, take an absorbance reading at 530 nm.

Using the colorimetric method of [31], which is based on the reduction of 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) by the (-SH) groups of glutathione, the content of reduced glutathione (GSH) in the brain was determined after homogenizing 100 mg of preserved organ tissue in 4 ml cold ethylenediaminetetraacetic acid EDTA (0.02 M). At a wavelength of 412 nm, the reaction mixture's colored complex's absorbance was measured. GSH concentration was represented as nmoles of GSH per mg of protein.

#### **Assessment of antioxidant enzyme activity.**

Liver and kidney homogenates were obtained by finely reducing 100 mg of tissue in 1 ml TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4) under freezing conditions.

The glutathione peroxidase (GPx) activity in tissue homogenate was evaluated using the procedure of [32]. This involves the reduction of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) in the presence of reduced glutathione (GSH) and the conversion of the latter to (GSSG) under the influence of GPx. The reaction was monitored spectrophotometrically at 340 nm.

Glutathione transferase (GST) activity was calculated according to the method of [33] using 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB), which conjugates with glutathione to make the GSTs contained in the brain homogenate act. Optical density changes were measured at 340 nm over a 30-second interval for 3 min. Specific enzymatic activity was given as nmols GSH-CDNB/min/mg protein.

**Histopathological investigation.** Fixed liver and kidney tissue were dehydrated, embedded in paraffin, cut into 5 µm-thick sections, placed on slides, and stained with hematoxylin-eosin [34]. A light microscope (Leica Microsystems CMS GmbH, D-35578, Germany) was used to inspect each slide and images were taken with a camera (Leica ICC50 W).

**Data analysis.** Data were expressed as mean ± standard of the mean (SEM) and analyzed using a one-factor analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test. Statistically significant differences were set at 95% ( $p < 0.05$ ). Data analysis and graphics were performed using GraphPad Prism version 9 statistical software.

## **RESULTS**

**Treatment's effects on rat body weight and both absolute and relative liver weights.** Rat body weight increased non-significantly after receiving H therapy compared to the control group. When EEC was administered at a dose of 200 mg/kg, there were no significant changes ( $p > 0.05$ ) compared to the control group. However, when this group was compared to the H group, their body weight decreased significantly. At 500 mg/kg EEC extract, however, a significantly substantially ( $p < 0.01$ ) rise in body weight was noted. In the H + EEC500 group, the co-administration of EEC500 increased the change in body weight, which was statistically highly significant ( $p < 0.01$ ) when compared to the control group (Table 1).

Weight gain in the H group was not statistically significant compared to the control group ( $p = 0.064$ ). In contrast, the EEC500 and combined groups showed highly significant increases (+ 68.12, + 70.25, + 59.37), respectively, compared with the control group, except for the 200 mg/kg extract dose, which showed a lower level compared with the harmine group (Table 1).

Harmin treatment showed that the liver weight of the treated rats increased both absolute and relative (+ 2.42 g, + 0.67 g) significantly compared with control rats. As with the control, the extract at 500 mg/kg likewise showed a noteworthy rise. The combined group's relative liver weight was considerably lower ( $p < 0.01$ ) than that of the H group when 500 mg/kg extract was co-administered (Table 1).

TABLE 1

Changes in total body weight, weight gain and organ weight measurements over a 21-day period.

Parameters	Control	H	EEC200	EEC500	H+ EEC200	H+ EEC500
Initial weight (g)	261.75 ± 3.17	243.37 ± 1.41	254.62 ± 1.48	244.37 ± 2.42	239.75 ± 0.79	238 ± 1.6
Final weight (g)	278.12 ± 3.02	291.87 ± 11.39	257.62 ± 4.07 <sup>##</sup>	312.5 ± 8.05 <sup>**</sup>	315.25 ± 11.74 <sup>**</sup>	297.37 ± 6.4
Weight gain (g)	16.37 ± 1.73	48.5 ± 11.04	7.75 ± 1.92 <sup>##</sup>	68.12 ± 6.93 <sup>***</sup>	70.25 ± 12.66 <sup>***</sup>	59.37 ± 6 <sup>**</sup>
Absolute liver weight (g)	8.69 ± 0.39	11.11 ± 0.6 <sup>**</sup>	8.81 ± 0.27 <sup>##</sup>	10.66 ± 0.35 <sup>*</sup>	11.19 ± 0.32 <sup>***</sup>	9.55 ± 0.3
Relative liver weight (g/100g bw)	3.12 ± 0.13	3.8 ± 0.09 <sup>**</sup>	3.42 ± 0.11	3.41 ± 0.05	3.59 ± 0.17	3.21 ± 0.07 <sup>##</sup>
Absolute Kidney weight (g)	1.33 ± 0.04	1.86 ± 0.16 <sup>**</sup>	1.31 ± 0.03 <sup>##</sup>	1.68 ± 0.08	1.87 ± 0.06 <sup>**</sup>	1.78 ± 0.06 <sup>**</sup>
Relative Kidney weight (g/100g bw)	0.48 ± 0.01	0.63 ± 0.03 <sup>***</sup>	0.51 ± 0.01 <sup>#</sup>	0.53 ± 0.01	0.60 ± 0.03 <sup>*</sup>	0.60 ± 0.01 <sup>*</sup>

Data are given as mean ± SEM, n = 8 in each group.

\* p &lt; 0.05, \*\* p &lt; 0.01, \*\*\* p &lt; 0.001 significant difference against control group.

# p &lt; 0.05, ## p &lt; 0.01 significant difference against H group.

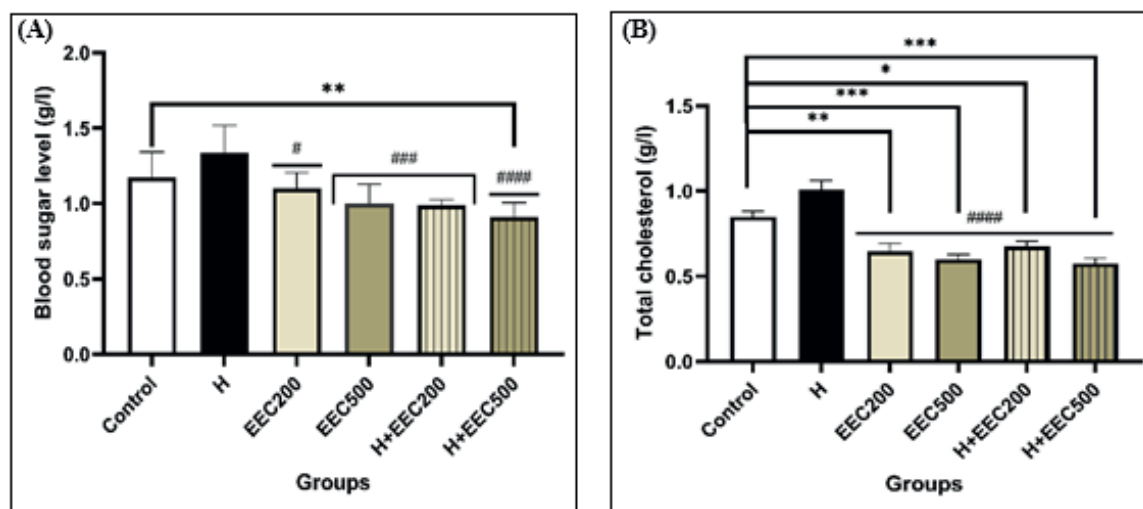


FIGURE 1

Effect of harmine and ethanolic extract of *M. chamomilla* on (A) blood glucose level and (B) cholesterol level after 21 days. Data are given as mean ± SEM; \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001 vs control group; # p < 0.05, ### p < 0.001, #### p < 0.0001 vs H group.

Significant increases in absolute and relative weights were seen in the renal index across the various harmine-treated groups. Administration of the extract alone, however, resulted in significantly smaller values (p < 0.01; p < 0.05) for absolute and relative weights respectively, as compared to the H group alone (Table 1).

**Treatment's effects on serum glucose and lipid profile.** As shown in Figure 1A, compared to control rats, the H group caused a non-significant rise in blood sugar levels. On the other hand, when EEC was given concurrently to H rats at 200 and 500 mg/kg attenuated these differences very significantly (p < 0.001, p < 0.0001) respectively, compared with the H group.

Total blood cholesterol levels (Figure 1B) in the H group his indicates a non-statistically significant increase, whereas oral administration of ethanolic extract of *M. chamomilla* ethanolic extract at dosage 500 mg/kg and in combination with harmine (H) demonstrated extremely significant reductions in

cholesterol levels when compared with the control (p < 0.001) and H (p < 0.0001) groups.

#### Treatment's effects on liver lipid peroxidation (LPO) and reduced glutathione (GSH) levels.

The results regarding the levels of hepatic MDA in the rats treated with H demonstrate a considerable rise (p < 0.001), but the addition of the extract dosages alone or in combination with H resulted in extremely significant reductions when compared to the control and H batches (Table 2). The group supplemented with 200 mg/kg extract had a statistically significant decrease compared to the H batch with (p < 0.001), but the H + EEC500 group displayed a level like the control 25.12 nmol/g).

Reduced glutathione (GSH) levels were much lower after treatment with H than in the control group (p < 0.001). Compared with the H group, the H + EEC500 group mitigated this decline with (+ 0.04 mmol/mg). There was also a significant rise when comparing the EEC500 group to the H group (Table 2).

**Treatment's effects on hepatic antioxidant enzymes.** In the H group, GPx and GST enzyme activity was considerably lower ( $p < 0.001$ ) than in the control group (Figure 2). In the H + EEC200 and H + EEC500 groups, ethanolic extract of *M. chamomilla* dramatically boosted ( $p < 0.001$ ) GPx enzyme activity. Furthermore, compared to the H group, the co-administration of 200 and 500 mg/kg to H rats dropped the enzymatic activity of GST with ( $0.04 \pm 0.002$  vs  $0.02 \pm 0.005$ ).

**Treatment's effects on kidney lipid peroxidation (LPO) and reduced glutathione (GSH) levels.** Although the data surrounding renal MDA levels in rats treated with H indicated a highly significant rise ( $p < 0.01$ ), the administration of 200 mg/kg of *M. chamomilla* extract resulted in a very low value compared to the H group. Comparing the H + EEC200 combination to the H group, there was a highly significant decline at a level comparable to the control group (Table 3).

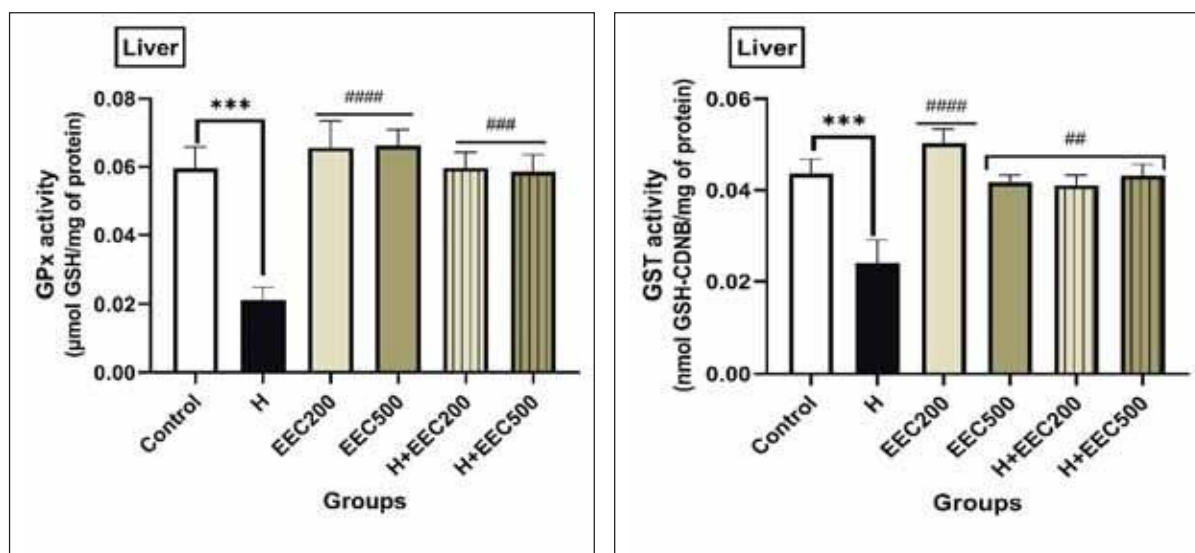
**TABLE 2**  
**Malondialdehyde and reduced glutathione levels over 21 days in the livers of control and treated rats.**

Parameters	Control	H	EEC200	EEC500	H+ EEC200	H+ EEC500
MDA (nmol/g of tissue)	23.05 ± 0.73	28.37 ± 0.92 <sup>***</sup>	18.21 ± 0.66 <sup>****</sup>	17.03 ± 0.77 <sup>****</sup>	22.68 ± 0.74 <sup>###</sup>	25.12 ± 0.88
GSH (mmol/mg of protein)	0.10 ± 0.003	0.07 ± 0.005 <sup>***</sup>	0.08 ± 0.003	0.10 ± 0.005 <sup>###</sup>	0.08 ± 0.003	0.11 ± 0.005 <sup>###</sup>

Data are given as mean ± SEM, n = 8 in each group.

<sup>\*\*</sup> p < 0.01, <sup>\*\*\*</sup> p < 0.001, <sup>\*\*\*\*</sup> p < 0.0001 significant difference against control group.

<sup>###</sup> p < 0.001, <sup>####</sup> p < 0.0001 significant difference against H group.



**FIGURE 2**

Response of hepatic antioxidant enzyme activity (GPx and GST) in control and treated rats after 21 days. Data are given as mean ± SEM; <sup>\*\*\*</sup> p < 0.001 vs control group; <sup>###</sup> p < 0.01, <sup>####</sup> p < 0.0001 vs H group.

**TABLE 3**  
**Kidney malondialdehyde and reduced glutathione levels over 21 days in control group (C) and treated rats (H; EEC; H + EEC).**

Parameters	Control	H	EEC200	EEC500	H+ EEC200	H+ EEC500
MDA (nmol/g of tissue)	49.93 ± 2.58	60.80 ± 3.33 <sup>**</sup>	42.62 ± 0.89 <sup>####</sup>	51.20 ± 1.11 <sup>#</sup>	46.94 ± 2.12 <sup>###</sup>	52.39 ± 0.79
GSH (mmol/mg of protein)	0.12 ± 0.002	0.08 ± 0.008 <sup>**</sup>	0.12 ± 0.003 <sup>##</sup>	0.147 ± 0.009 <sup>####</sup>	0.12 ± 0.002 <sup>####</sup>	0.10 ± 0.004

Data are given as mean ± SEM, n = 8 in each group.

<sup>\*</sup> p < 0.05, <sup>\*\*</sup> p < 0.01 significant difference against control group.

<sup>##</sup> p < 0.01, <sup>###</sup> p < 0.001, <sup>####</sup> p < 0.0001 significant difference against H group.

The difference in reduced glutathione (GSH) levels is also seen in Table 3. Compared to control rats, animals who received H exhibited a statistically significant low level ( $p < 0.01$ ). However, an improvement was observed in the batch fed 500 mg/kg EEC ( $p < 0.05$ ). Significant differences were also observed between groups that received the extract either by itself or in conjunction with H, in contrast to the H group (Table 3).

**Treatment's effects on renal antioxidant enzymes.** GPx activity was significantly less active ( $p < 0.01$ ) in the group of rats receiving H than in the control group. On the other hand, rats receiving EEC200 and EEC500 extracts showed non-significantly increased levels ( $p < 0.001$ ) compared to the control group but significantly higher than the H group. Similarly, compared with the H group, the

combined groups showed enhanced levels of GPx activity. *M. chamomilla* extract revealed no discernible variation in GST activity, unlike the H group, which showed a marked decrease compared with the control group (Figure 3).

**Histological examination.** The hepatic architectures of the liver following H treatment were like those of the control (Figure 4A, B), comprising clear-nucleated hepatocytes arranged radially around a central vein (Figure 4C) and a normal portal area (hepatic artery, vein, and bile ducts) (Figure 4D). EEC extract did not significantly alter the hepatic architecture (Figure 4E-L), where hepatocytes are interwoven with thin-walled hepatic sinusoids of normal caliber and Kupffer cells with a normal-sized centrilobular vein and a visible portal area.

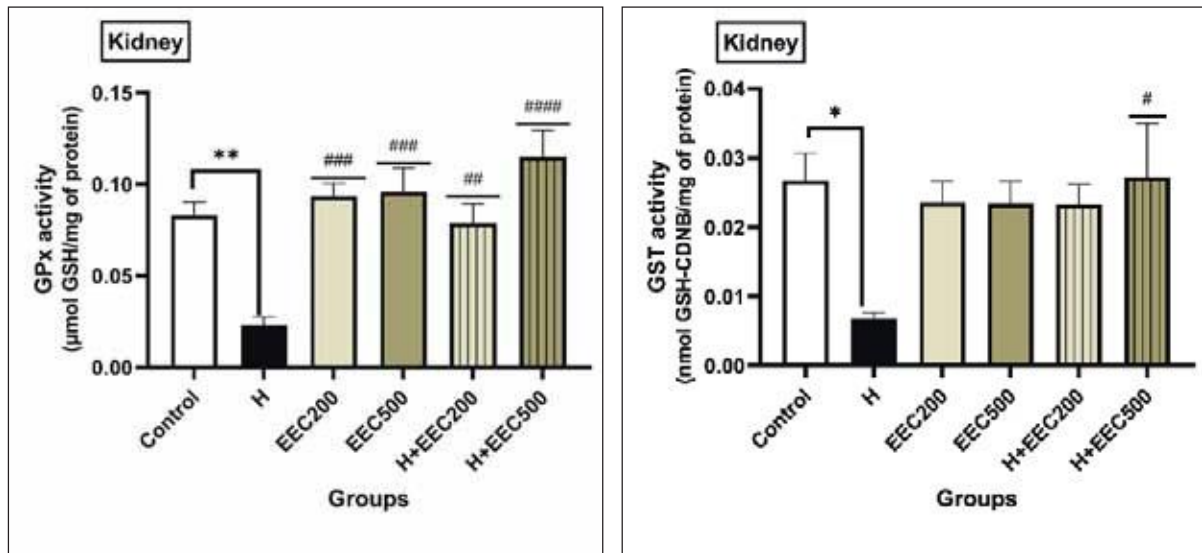
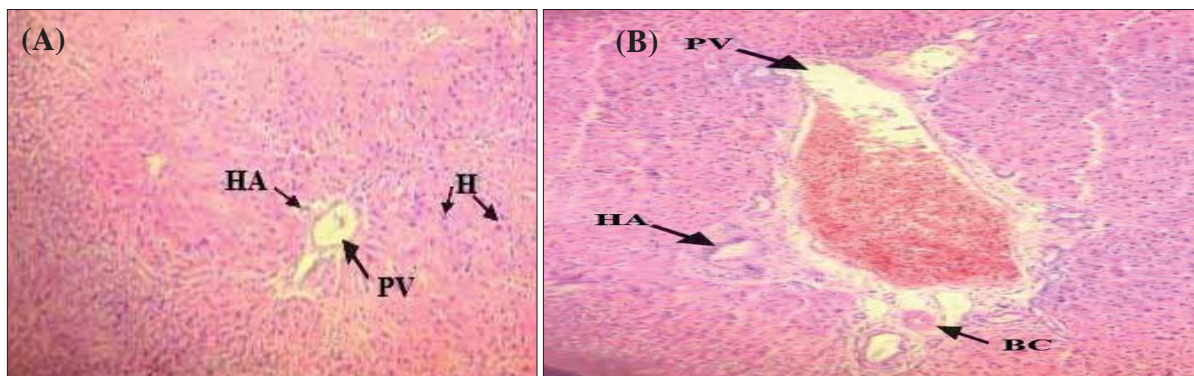
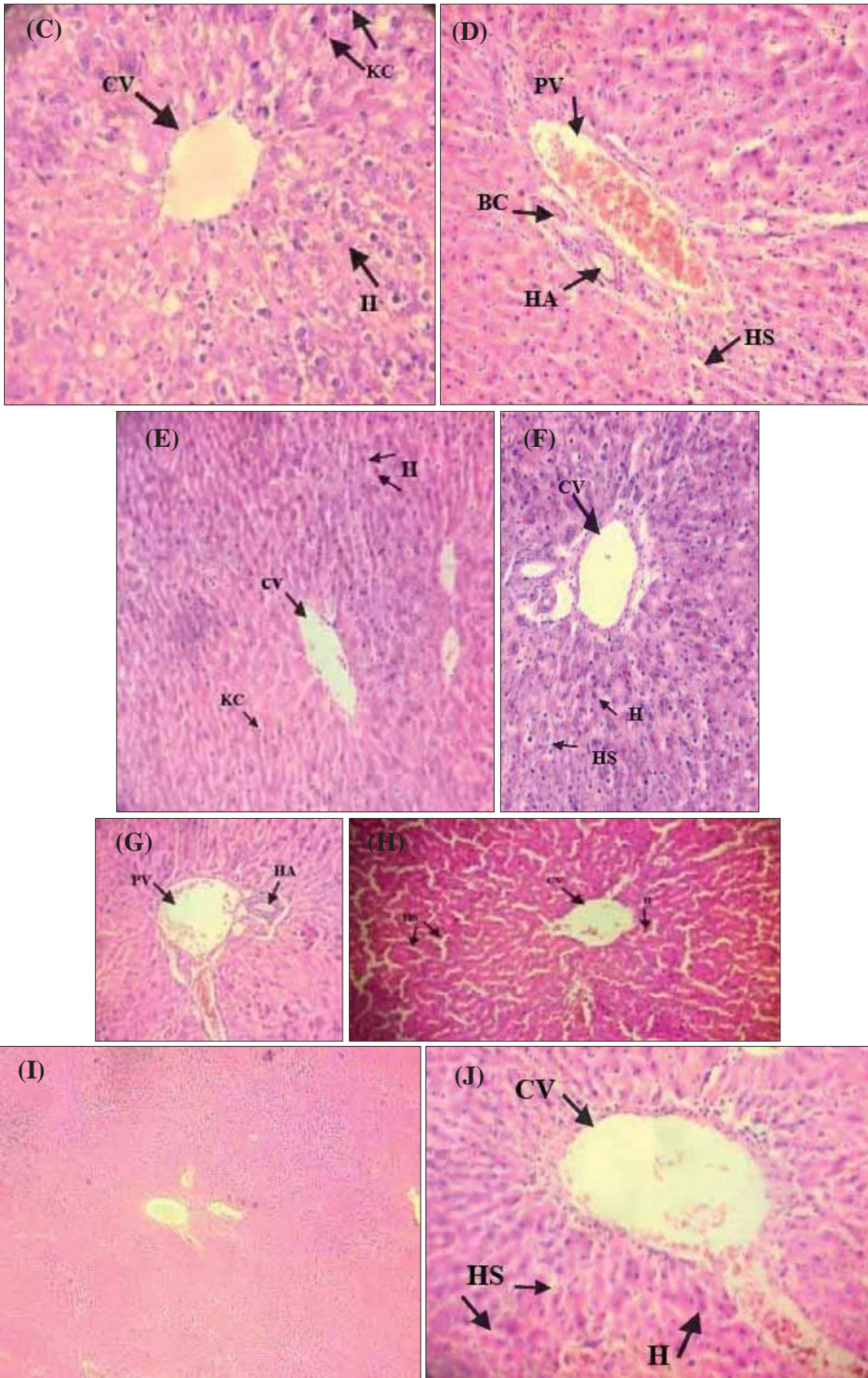
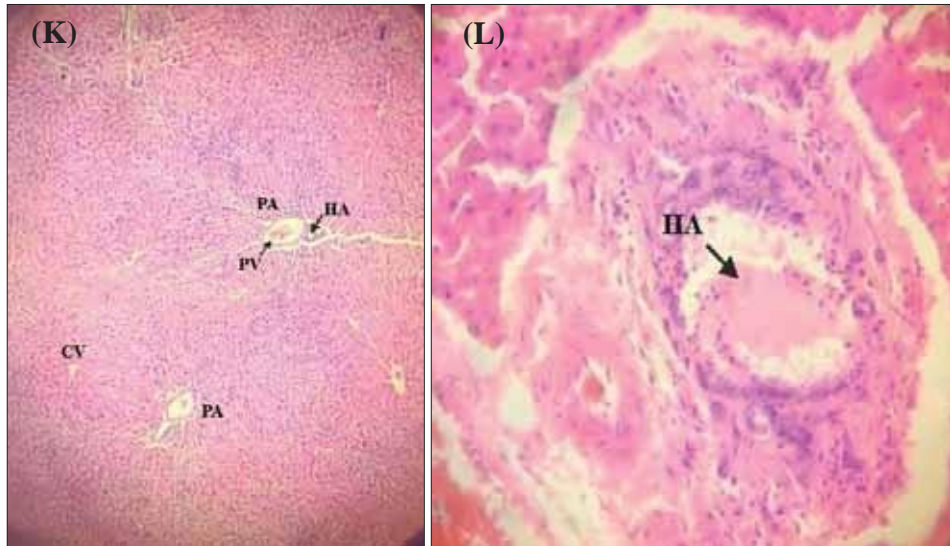


FIGURE 3

Response of renal antioxidant enzyme activity (GPx and GST) in control and treated rats after 21 days. Data are given as mean  $\pm$  SEM; \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  vs control group; #  $p < 0.05$ , ##  $p < 0.01$ , ###  $p < 0.001$ , ####  $p < 0.0001$  vs H group.





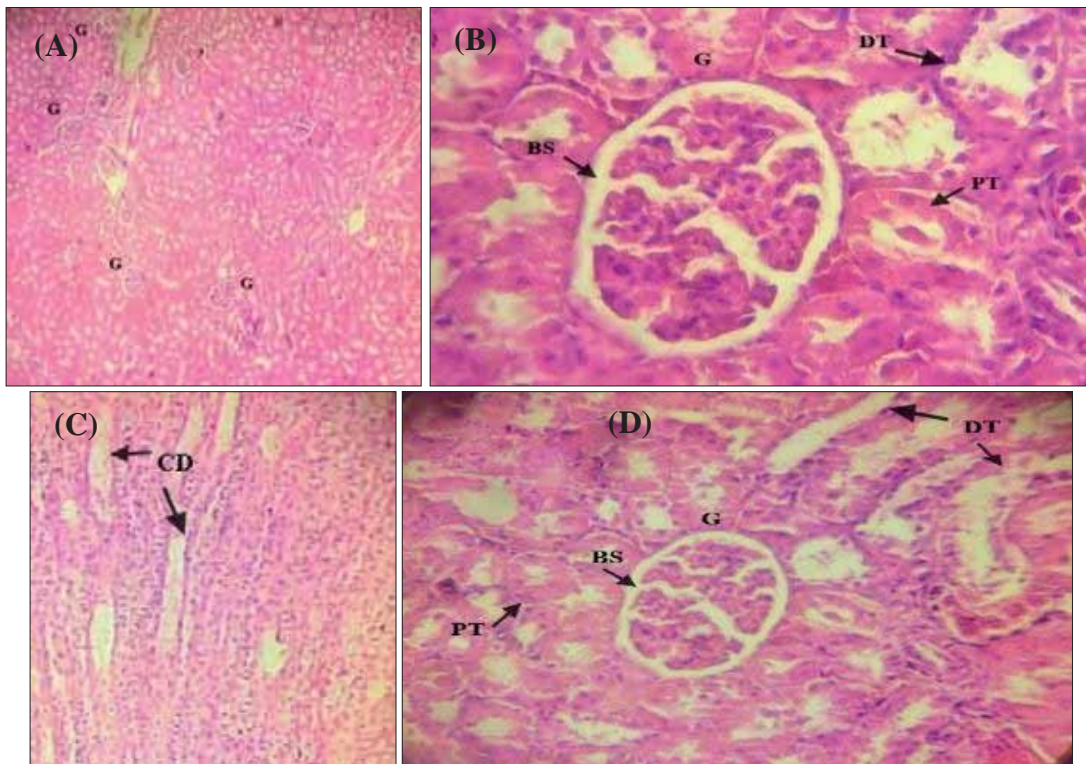


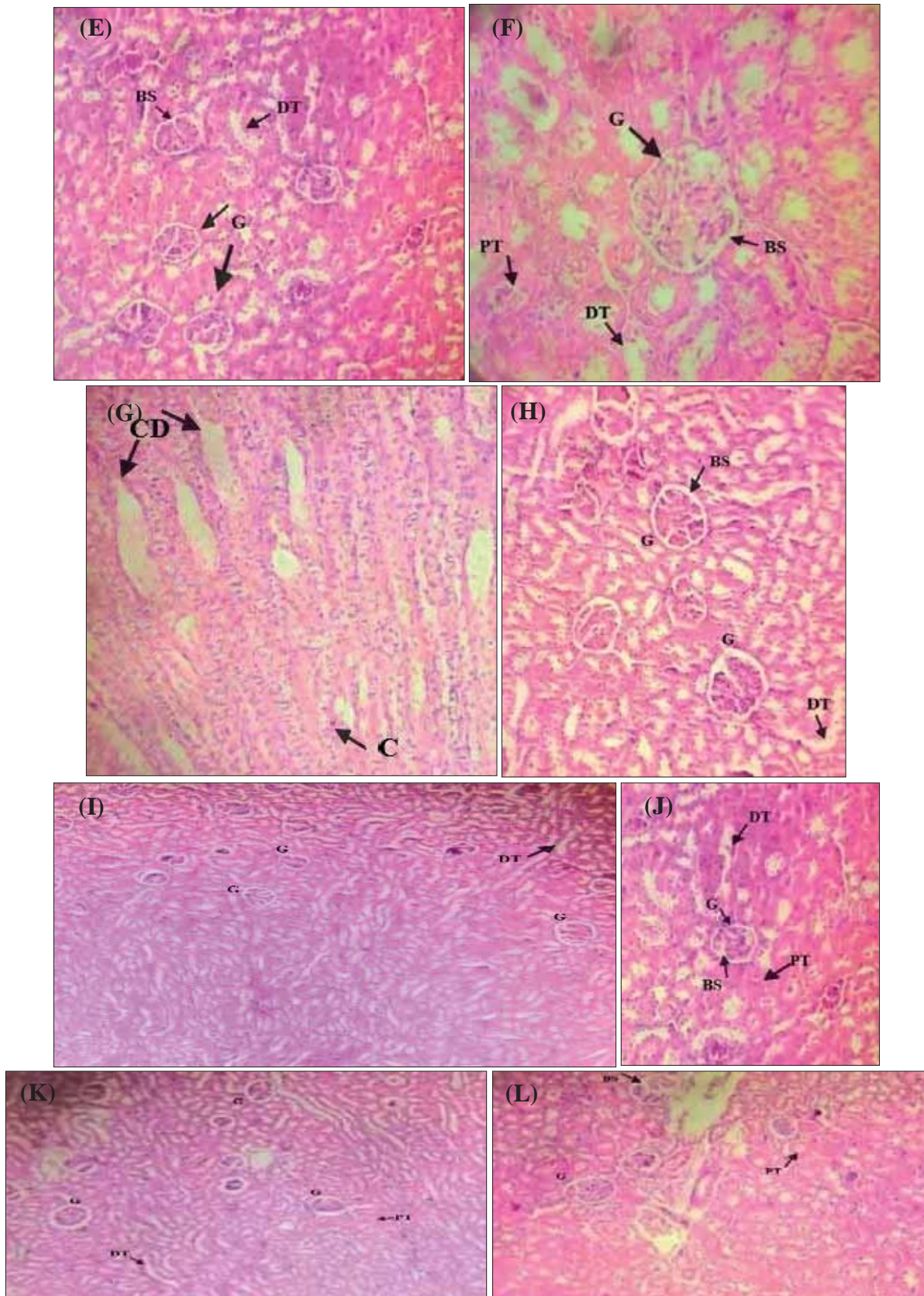
**FIGURE 4**

**Photomicrographic examinations of hematoxylin and eosin-stained liver tissue sections from Wistar rats used as controls (A, B), and those injected with harmine (C, D), EEC200 treatment (E, F), EEC500 treatment (G, H), the H + EEC200 group (I, J), and the H + EEC500 group (K, L). Arrows indicate: Centrilobular vein (CV), Portal area (PA), Kupffer cells (KC), Hepatic cells (H), Hepatic sinusoids (HS), Portal vein (PV), Hepatic artery (HA) and Bile ducts (BC) (H&E, x100 and x400).**

The control group's kidney samples had a normal-sized Bowman's capsule and a distinct renal glomerular architecture (Malpighian corpuscle) with contoured tubules (Figure 5A, B). In the rats treated with H, the glomerular (G) space of the Bowman's capsule was of normal size with visible tubules (Figure 5D), and the medullary section was clear with distinct collecting tubes (Figure 5C). Following

treatment of *M. chamomilla* extract at 200 and 500 mg/kg, the renal histoarchitecture displayed a normal shape with narrow-lumen proximal tubules and straightforward columnar epithelium (Figure 5E-H). Similarly, there was no discernible difference between the combined groups and the other groups' glomeruli, tubules, and tissue (Figure 5I-L).





**FIGURE 5**

Photomicrographs of (H&E)-stained kidney tissue sections from Wistar rats used as controls (A, B) and from rats injected with harmine (C, D), EEC200 treatment (E, F), EEC500 treatment (G, H), the H + EEC200 group (I, J), and the H + EEC500 group (K, L). Arrows indicate Glomerulus (G), Proximal tubules (PT), Distal tubules (DT), Collecting ducts (CD), Bowman's space (BS), Capillaries (C) (H&E, x200 and x400).

## DISCUSSION

Harmine is a  $\beta$ -carboline alkaloid derived from the *P. harmala* plant and frequently used as a medication. Numerous experimental investigations have looked at harmine's toxicity. This study aimed to determine whether ethanolic chamomile extract (EEC) protects rats against harmine (H) effects on the liver, kidneys, and oxidative stress.

An essential endpoint for identifying potentially hazardous effects of substances in toxicology research is examining body weight [35]. The present study's fluctuation in body weight between the H and control groups was elevated insignificantly, indicating that the H rats' daily consumption was unaffected and treatment with a single dose of harmine had no negative effect on animal growth. This finding is consistent with previous research [36], which found that administering 10 mg/kg of the alkaloid harmine caused a rise in body weight. Similarly, [13] did not exhibit a change in body weight following the administration of three distinct harmine dosages. Additionally, the weight gain shown in rats treated with EEC can be associated with increased concentrations of natural compounds such as flavonoids and polyphenols [28], indicating that the extract of *M. recutita* enhances the rats' diets. This is consistent with other research [37], which found that Chamomile rats' body weight increased relative to controls in stressful conditions like the one we studied.

We have information indicating that the alkaloid harmine can harm every internal organ. The significant variations in absolute and relative liver and kidney weights seen in this study can be explained by the accumulation of harmine inside these organs, also another possibility is the production of free radicals (ROS) within the organs themselves. Moreover, [9] demonstrated a change in relative kidney weight following the administration of a crude extract of *P. harmala*, which supports our suggestion. [38] also displays similar results, showing an increase in relative liver weight after subacute administration of alkaloids (harmine and harmaline) extracted from *P. harmala*. The weight of these two organs is restored with supplementation with the ethanolic extract of *M. chamomilla*, indicating that this plant has a protective effect by lowering the production of free radicals. Indeed, according to [17], the extract from camouflage decoction guards against weight accumulation in the kidneys and liver. This might be explained by the plant's ability to produce antioxidants [16]. [39] has previously demonstrated that the protective properties of phenolic compounds were responsible for these benefits.

The liver produces free glucose from the charge of hepatic stores and regulates glucose synthesis. Additionally, it serves as the primary location for producing and breaking cholesterol [9]. Compared to the control, mean blood sugar levels at the dosage under investigation of H exhibited a non-significant

rise. This finding is in line with research done on harmine alkaloid, administered at a dosage of 5 mg/kg, as well as *P. harmala* methanolic extract [40], [41]. Total cholesterol is the sum of all the cholesterol in the blood, including HDL, LDL, and VLDL particles. It is mostly found in nerve tissue. Many disorders are caused by dysregulation of this lipid metabolism [42]. As the rise in relative liver weight suggests, there was a non-noticeable increase in blood total cholesterol levels following the treatment period, according to the examination of the liver lipid profile. These fluctuations also suggested the possibility of hepatic modifications. [40] displays the same outcome following the 10 mg/kg harmine dosage. According to a prior study, harmine toxicity may be reversible if there is a notable recovery in total cholesterol following a time of medication cessation. Conversely, the differences in the other groups treated with EEC suggest that this plant has a hypoglycemic impact. Supplementing with EEC brought the level down to about normal. The same outcomes were seen after therapy with chamomile extract Field [23]. The hypolipidic properties of the *M. recutita* plant are responsible for the observed decrease in cholesterol levels in EEC-extracted groups compared to H and control groups. In hepatoprotective investigations, research by [24], [43] shows similar outcomes following co-administration with *M. chamomilla*. Phenolic compounds, specifically polyphenols and flavonoids, have been shown in several instances to be able to alleviate metabolic abnormalities [44]. This claim is supported by earlier studies on *M. chamomilla* extracts, which show this plant's antioxidant ability to lower total cholesterol [45] and blood sugar at the molecular level [19], [46].

Reactive oxygen species (ROS) are essential for signaling and maintaining cell homeostasis. Nonetheless, aberrant circumstances like toxicity significantly boost the generation of ROS. On the other hand, unusual circumstances like poisoning significantly boost ROS generation [47]. The latter inhibits the organelles' oxidative defense mechanisms, which can cause severe harm and oxidative stress by oxidatively deactivating enzymes and oxidizing polyunsaturated fatty acids to lipids [48].

The results of this study clearly demonstrate that, compared to the control group, harmine treatment resulted in a marked increase in MDA, a significant decrease in GSH content, and inhibition of GPx and GST activities in liver and kidney tissues. These findings result from dysfunctions in the system that scavenge free radicals (ROS). This imbalance between oxidants and antioxidants simultaneously validates harmine's harmful effects on liver and kidney function. As evidenced by multiple studies, the stimulation of oxidative antioxidant defenses promotes the production of free radicals (ROS) at the organ level. MDA is the major key marker of this lipid peroxidation [49]. In this investigation, harmine

at a dose of 40 mg/kg caused ROS generation, manifested as an excessive production of MDA. This, in turn, caused a drop in the primary antioxidant markers involved in scavenging free radicals such as GSH, GPx and GST. These findings are corroborated by [50], which demonstrates the harmful impact of harmine and  $\beta$ -carboline derivatives on mitochondrial dysfunction, which leads to glutathione losses and an increase in reactive oxygen species and glutathione disulfide. As is already known, the primary source of harmful ROS production is the mitochondria, and different mitochondrial inhibitors can increase this production [10]. Because mitochondria are in hepatocytes, as in other organic cells, the increase in MDA in H rats' kidneys confirms these findings. In line with these findings, harmine or its analogs have been shown to significantly reduce GSH content while simultaneously raising MDA and glutathione disulfide (GSSG) levels. This is consistent with the research done by [10].

However, EEC treatment outperformed the control group regarding enzymatic activity, high GSH levels, and reduced MDA levels at both tested dosages. Conversely, the recuperation shown in rats given various H + EEC combinations dosages, accompanied by a notable rise in GSH levels in the liver and kidneys, may be related to a cellular process for repairing damaged macromolecules. Parallel to this, several studies have demonstrated *M. chamomilla*'s antioxidant ability to lessen the appearance of ROS. has strong antioxidant activity in scavenging free radicals [24], and concurrently exhibits high quantities of flavonoids and phenols, which are the primary sources of *M. chamomilla*'s antioxidant capacity [16]. Previous research indicates that a few phenolic compounds found in *M. recutita* [16], [17], and particularly flavonoids [45], have a protective effect on the liver and kidneys by scavenging  $H_2O_2$ , strengthening the organ's natural defense against oxidative stress. These findings are consistent with studies where *M. chamomilla* extract considerably decreased the degree of oxidative changes from azathioprine [45] and peroxynitrite in blood plasma [51].

Although the development of oxidative stress is a significant factor in tissue modifications, microscopic histomorphological analysis of the kidney and liver did not show any significant pathological changes or toxic consequences in the H group. Harmine was injected just once; hence this outcome can be interpreted as a dose-dependent impact. This finding is consistent with the [40] research, which found that persistent treatment of modest dosages of the alkaloid harmine, as opposed to large levels, did not cause morphological alterations.

Furthermore, other earlier research has indicated that the lack of tissue damage following exposure to  $\beta$ -carboline alkaloids is likely associated with the sampling time and, thus, with the pace at which

harmine is eliminated from the organ [13]. Additionally, [52] showed that a 50 mg/kg dosage of harmala plant extract did not appear to have any harmful effects on the kidneys or liver. However, when exposed to EEC extract, the liver and kidney histology showed no discernible alterations. EEC's antioxidant activity was demonstrated by the fact that both dosages maintained a protective effect against enzymatic and metabolic changes in both organs. Our research findings align with those of [45], which shows that this plant contains naturally occurring substances with the potential to be hepatoprotective antioxidants.

In conclusion, the redox system in the liver and kidneys was adversely affected by therapy with  $\beta$ -carboline harmine, as per this study. Oral supplementation of EEC to rats that have received harmine treatment reduces the negative effects of this alkaloid by enhancing the ability of enzymatic antioxidants, most likely due to their potent antioxidant and radical-scavenging properties.

## REFERENCES

- [1] Zhu, Z., Zhao, S., and Wang, C. (2022)  $\beta$ -Carboline Alkaloids from *Peganum harmala* Inhibit *Fusarium oxysporum* from *Codonopsis radix* through Damaging the Cell Membrane and Inducing ROS Accumulation. *Pathogens*. 11(11), 1341.
- [2] Lamchouri, F. (2014) Antitumor properties and toxicity effects of *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*). *Plant Sci. Today*. 1(4), 192–195.
- [3] Senhaji, S., Lamchouri, F., Boulifa, M., Lachkar, N., Bouabid, K. and Toufik, H. (2022) Mineral composition, content of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antibacterial activities of aqueous and organic extracts of the seeds of *Peganum harmala* L. *South African J. Bot.* 147, 697–712.
- [4] Arif, M., Wang, X., Kazi, M.S.K., Ullah Khan, S., Saeed, S., Khan, A.M., Khan, R.A., Afzal, M., Nawaz, A.F., Zia, M.A., Elansary, H.O., Shokralla, S., Alhalabi, A., Gul, A. and Fiaz, S. (2022) Antimicrobial activities of different solvent extracts from stem and seeds of *Peganum Harmala* L. *PLoS One*. 17(4), e0265206.
- [5] Iranshahy, M., Fazly Bazzaz, S., Haririzadeh, G., Abootorabi, B.Z., Mohamadi, A.M. and Khashyarmansh, Z. (2019) Chemical composition and antibacterial properties of *Peganum harmala* L. *Avicenna J. Phytomedicine*. 9(6), 530–537.
- [6] Zhang, H., Sun, K., Ding, J., Xu, H., Zhu, L., Zhang, K., Li, X. and Sun, W. (2014) Harmine induces apoptosis and inhibits tumor cell proliferation, migration and invasion through down-regulation of cyclooxygenase-2 expression in gastric cancer. *Phytomedicine*. 21(3), 348–355.

- [7] Liu, W., Wang, Y., He, D.D., Li, S.P., Zhu, Y.D., Jiang, B., Cheng, X.M., Wang, Z.T. and Wang, C.H. (2015) Antitussive, expectorant, and bronchodilating effects of quinazoline alkaloids ( $\pm$ )-vasicine, deoxyvasicine, and ( $\pm$ )-vasicinone from aerial parts of *Peganum harmala* L. *Phytomedicine*. 22(12), 1088–1095.
- [8] He, D., Wu, H., Wei, Y., Liu, W., Huang, F., Shi, H., Zhang, B., Wu, X. and Wang, C. (2015) Effects of harmine, an acetylcholinesterase inhibitor, on spatial learning and memory of APP/PS1 transgenic mice and scopolamine-induced memory impairment mice. *Eur. J. Pharmacol.* 768, 96–107.
- [9] Rezzagui, A., Merghem, M., Derafa, I. and Dahamna, S. (2020) Acute and Sub-acute Toxic Effects of Algerian *Peganum harmala* L. *Crud Extract*. *J. Drug Deliv. Ther.* 10(2), 115–121.
- [10] Nakagawa, Y., Suzuki, T., Ishii, H., Ogata, A. and Nakae, D. (2010) Mitochondrial dysfunction and biotransformation of  $\beta$ -carboline alkaloids, harmine and harmaline, on isolated rat hepatocytes. *Chem. Biol. Interact.* 188(3), 393–403.
- [11] Ghizlane, E.A., Manal, M., Ines, H.A., Soufiane, D., Moussa, L., Houssam, B. and Brahim, H. (2021) Fatal poisoning of pregnant women by *peganum harmala* L.: A case reports. *Ann. Med. Surg.* 68. 102649.
- [12] Herraiz, T., González, D., Ancín-Azpilicueta, C., Arán, V.J. and Guillén, H. (2010)  $\beta$ -Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food Chem. Toxicol.* 48(3), 839–845.
- [13] Wang, Y., Wang, H., Zhang, L., Zhang, Y., Sheng, Y., Deng, G., Li, S., Cao, N., Guan, H., Cheng, X. and Wang, C. (2019) Subchronic toxicity and concomitant toxicokinetics of long-term oral administration of total alkaloid extracts from seeds of *Peganum harmala* Linn: A 28-day study in rats. *J. Ethnopharmacol.* 238, 111866.
- [14] Fortunato, J.J., Réus, G.Z., Kirsch, T.R., Stringari, R.B., Fries, G.R., Kapczinski, F., Hallak, J.E., Zuardi, A.W., Crippa, J.A. and Quevedo, J. (2010) Effects of  $\beta$ -carboline harmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: Further evidence of antidepressant properties. *Brain Res. Bull.* 81(4–5), 491–496.
- [15] Akbari, B., Baghaei Yazdi, N., Bahmaie, M. and Mahdavi Abhari, F. (2022) The role of plant-derived natural antioxidants in reduction of oxidative stress. *BioFactors*. 48(3), 611–633.
- [16] Sebai, H., Jabri, M.A., Souli, A., Hosni, K., Rtibi, K., Tebourbi, O., El-Benaa, J. and Sakly, M. (2015) Chemical composition, antioxidant properties and hepatoprotective effects of chamomile (*Matricaria recutita* L.) decoction extract against alcohol-induced oxidative stress in rat. *Gen. Physiol. Biophys.* 34(03), 263–275.
- [17] Jabri, M.A., Sakly, M., Marzouki, L. and Sebai, H. (2017) Chamomile (*Matricaria recutita* L.) decoction extract inhibits in vitro intestinal glucose absorption and attenuates high fat diet-induced lipotoxicity and oxidative stress. *Biomed. Pharmacother.* 87, 153–159.
- [18] Bulgari, M., Sangiovanni, E., Colombo, E., Maschi, O., Caruso, D., Bosisio, E. and Dell'Agli, M. (2012) Inhibition of Neutrophil Elastase and Metalloprotease<sup>9</sup> of Human Adenocarcinoma Gastric Cells by Chamomile (*Matricaria recutita* L.) Infusion. *Phyther. Res.* 26(12), 1817–1822.
- [19] Khan, S.S., Najam, R., Anser, H., Riaz, B., and Alam, N. (2014) Chamomile tea: herbal hypoglycemic alternative for conventional medicine. *Pak. J. Pharm. Sci.* 27(5), 1509–1514.
- [20] Al-Dabbagh, B., Elhaty, I.A., Elhaw, M., Murali, C., Al Mansoori, A., Awad, B. and Amin, A. (2019) Antioxidant and anticancer activities of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *BMC Res. Notes*. 12(1), 3.
- [21] Jabri, M.A., Limas-Nzouzi, N., Eto, B. and Sebai, H. (2020) Chamomile decoction modulates water, neutral NaCl and electrogenic ionic exchange in mice intestinal epithelium. *Food Biosci.* 35, 100608.
- [22] Qureshi, M.N., Stecher, G. and Bonn, G.K. (2019) Determination of total polyphenolic compounds and flavonoids in *Matricaria chamomella* flowers. *Pak. J. Pharm. Sci.* 32(5), 2163–2165.
- [23] Güzeldere, H.K.B., Büyüksulu, N. and İduğ, T. (2022) The effect of chamomile extract on blood sugar level, lipid profile and body weight in high-fat diet fed rats. *ACTA Pharm. Sci.* 60(2), 207.
- [24] Al-Snafi, A.E. and Hasham, L.F. (2023) Bioactive constituents and pharmacological importance of *Matricaria chamomilla*: A recent review. *GSC Biol. Pharm. Sci.* 22(2), 079–098.
- [25] Bohui, P.S.G., Adima, A.A., Niamké, F.B. and N'Guessan, J.D. (2018) Comparative study of three methods for extracting total flavonoids from the leaves of medicinal plants: *Azadirachta indica* and *Psidium guajava*. *J. la Société Ouest-Africaine Chim.* 46, 50–58. (in French).

- [26] Jiang, P., Dang, R.L., Li, H.D., Zhang, L.H., Zhu, W.Y., Xue, Y. and Tang, M.M. (2014) The Impacts of Swimming Exercise on Hippocampal Expression of Neurotrophic Factors in Rats Exposed to Chronic Unpredictable Mild Stress. Evidence-Based Complement. Altern. Med. 2014, 1–8.
- [27] Moloudizargari, M., Mikaili, P., Aghajanshakeri, S., Asghari, M.H. and Shayegh, J. (2013) Pharmacological and therapeutic effects of Peganum harmala and its main alkaloids. Pharmacogn. Rev. 7(14), 199.
- [28] Asgharzade, S., Rabiei, Z. and Rafieian-Kopaei, M. (2015) Effects of Matricaria chamomilla extract on motor coordination impairment induced by scopolamine in rats. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 5(10), 829–833.
- [29] Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72(1-2), 248-254.
- [30] Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 95(2), 351–358.
- [31] Weckbecker, G. and Cory, J.G. (1988) Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depended mouse leukaemia L 1210 cells in vitro. Cancer Lett. 40, 257–264.
- [32] Flohé, L. and Günzler, W.A. (1984) Assays of Glutathione Peroxidase. Methods Enzymol. 105, 114–120.
- [33] Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B. (1974) Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. J. Biol. Chem. 249(22), 7130-7139.
- [34] Hould, R. (1984) Histopathology and cytopathology techniques. Ed Maloine. 19(21), 225–227. (in French)
- [35] Loha, M., Mulu, A., Abay, S.M., Ergete, W. and Geleta, B. (2019) Acute and Subacute Toxicity of Methanol Extract of Syzygium guineense Leaves on the Histology of the Liver and Kidney and Biochemical Compositions of Blood in Rats. Evidence-Based Complement. Altern. Med. 2019, 1–15.
- [36] Bettihi, S., Mahdeb, N. and Bouzidi, A. (2022) Evaluation of Maternal Toxicity in Rats Exposed to the Total Extract of the Alkaloids in the seeds of Peganum harmala L. during Pregnancy. Turkish J. Agric.-Food Sci. Technol. 10(10), 2067–2075.
- [37] Hashikawa-Hobara, N., Otsuka, A., Ishikawa, R. and Hashikawa, N. (2019) Roman chamomile inhalation combined with clomipramine treatment improves treatment-resistant depression-like behavior in mice. Biomed. Pharmacother. 118, 109263.
- [38] Benbott, A., Mosbeh, C., Karouche, S., Hama-douche, N. and Mahdi, D. (2022) Subacute hepatotoxicity of alkaloids extracts of Peganum harmala L. seeds in Wistar albino rats. Not. Sci. Biol. 14(2), 11211.
- [39] Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L. and Delikanli, B. (2014) Phenolics in Human Health. Int. J. Chem. Eng. Appl. 5(5), 393–396.
- [40] Zhanaidarova, G.U., Yessimova, R.Z., Nurseitova, K.T., Seidakhmetova, R.B., Arystan, L.I., Adekenov, S.M., Nauryzov, N.N. and Berikbaeva, B.K. (2019) Experimental research of Harmine hydrochloride effect on internal organs. Bangladesh J. Med. Sci. 18(3), 598–606.
- [41] Magdy, N., Salama, M., Alsaedy, Y. and El-Sayed, G. (2020) Ameliorative effects of Pergamum harmala seed extract on obese diabetic rats. Mansoura Vet. Med. J. 21(3), 116–120.
- [42] Naim, M.R., Sulastri, S. and Hadi, S. (2019) Gambaran hasil pemeriksaan kadar kolesterol pada penderita hipertensi di rsud syekh yusuf kabupaten gowa. J. Media Laboran. 9(2), 33–38.
- [43] Prasanna, R., Ashraf, E.A. and Essam, M.A. (2017) Chamomile and oregano extracts synergistically exhibit antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and renal protective effects in alloxan-induced diabetic rats. Can. J. Physiol. Pharmacol. 95(1), 84–92.
- [44] Aryaeian, N., Sedehi, S.K. and Arablou, T. (2017) Polyphenols and their effects on diabetes management: A review. Med. J. Islam. Repub. Iran. 31(1), 886–892.
- [45] Mannaa, F.A., Ibrahim, N.A., Ibrahim, S.S., Abdel-Wahhab, K.G., Hassan, N.S. and Mohammed, S.G. (2015) Preventive role of chamomile flowers and fennel seeds extracts against liver injury and oxidative stress induced by an immunosuppressant drug in rats. Hepatoma Res. 1(3), 125.
- [46] Bhattacharjee, S., Ray, A. and Chakraborty, K. (2022) Therapeutic and ethnopharmacological role of chamomile (Matricaria chamomilla L.) and its holistic impact on genomics-a comprehensive review. World J. Pharm. Res. 11, 705.
- [47] Elhelaly, A.E., AlBasher, G., Alfarraj, S., Almeer, R., Bahbah, E.I., Fouda, M.M., Bungäu, S.G., Aleya, L. and Abdel-Daim, M.M. (2019) Protective effects of hesperidin and diosmin against acrylamide-induced liver, kidney, and brain oxidative damage in rats. Environ. Sci. Pollut. Res. 26(34), 35151–35162.
- [48] Nita, M. and Grzybowski, A. (2016) The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. Oxid. Med. Cell. Longev. 2016, 1–23.

- [49] Trea, F., Tichati, L. and Ouali, K. (2022) Protective effect of *Thymus munbyanus* aqueous extract against 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Drug Chem. Toxicol.* 45(3), 1109–1118.
- [50] Réus, G.Z., Stringari, R.B., Gonçalves, C.L., Scaini, G., Carvalho-Silva, M., Jeremias, G.C., Ferreira, G.K., Streck, E.L., Hallak, J.E., Zuardi, A.W., Crippa, J.A. and Quevedo, J. (2012) Administration of Harmine and Imipramine Alters Creatine Kinase and Mitochondrial Respiratory Chain Activities in the Rat Brain. *Depress. Res. Treat.* 2012, 1–7.
- [51] Kolodziejczyk-Czepas, J., Bijak, M., Saluk, J., Ponczek, M.B., Zbikowska, H.M., Nowak, P., Maniecka, M.T. and Pawlaczyk, I. (2015) Radical scavenging and antioxidant effects of *Matricaria chamomilla* polyphenolic–polysaccharide conjugates. *Int. J. Biol. Macromol.* 72, 1152–1158.
- [52] Muhi-Eldeen, Z., Al-Shamma, K.J., Al-Hussainy, T.M., Al-Kaissi, E.N., Al-Daraji, A.M. and Ibrahim, H. (2008) Acute toxicological studies on the extract of Iraqi *Peganum harmala* in rats. *Eur. J. Sci. Res.* 22(4), 494–500.

---

**Received:** 07.01.2024

**Accepted:** 22.01.2024

---

#### **CORRESPONDING AUTHOR**

---

**Youcef Islam Hamida**

Applied Neuroendocrinology Laboratory

Badji Mokhtar Annaba University

Annaba 23000 – Algeria

e-mail: youcef2islem@gmail.com