

Effet thérapeutique de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. chez les rats Wistar exposés de manière subchronique à l'imidaclopride. Étude neurocomportementale

Therapeutic Effect of the Aqueous Extract *Pimpinella anisum* L. in Wistar Rats Subchronically Exposed to Imidacloprid: Neurobehavioral Study

N. Taibi · K. Kahloula · D. E. H. Adli · W. Arabi · M. Brahimi · M. Slimani

© Lavoisier SAS 2020

Résumé La présente étude a été réalisée afin d'évaluer le pouvoir thérapeutique de l'extrait aqueux de la *Pimpinella anisum* L. suite à une exposition à l'imidaclopride (IMD) durant 28 jours chez les rats Wistar. Les résultats relatifs au test d'*open field* représentent une réduction significative ($p < 0,001$) du nombre de carreaux traversés chez le lot intoxiqué comparé à celui du lot témoin, ce qui traduit une réduction de l'activité locomotrice. En outre, le test de la nage forcée présente une augmentation significative ($p < 0,001$) du temps d'immobilité chez les rats exposés à l'IMD comparativement aux rats témoins et exposés traités. L'analyse statistique des données concernant l'épreuve de test de Barnes a montré que les rats exposés à ce pesticide ont un nombre d'erreurs et un temps de latence pour rejoindre le trou cible significativement ($p < 0,001$) plus élevés que ceux des rats témoins et intoxiqués traités. Ce qui reflète une atteinte des performances d'apprentissage et de la mémoire spatiale. En conclusion, l'extrait de *Pimpinella anisum* L. présente un effet bénéfique sur le système nerveux des rats adultes intoxiqués à l'IMD.

Mots clés Imidaclopride · *Pimpinella anisum* L. · Activité locomotrice · Performances d'apprentissage · Mémoire spatiale

Abstract This study was carried out in order to evaluate the therapeutic power of the aqueous extract of *Pimpinella anisum* L. (EAP) following 28-days exposure to imidacloprid (IMD) in Wistar rats. The results of the open field test represent a significant reduction ($P < 0.001$) in the number of squares crossed in the intoxicated lot compared to the control lot, which trans-

lates into a reduction in locomotor activity. In addition, the forced swimming test showed a significant increase ($P < 0.001$) in the immobility time in rats exposed to IMD compared to control and exposed treated rats. Statistical analysis of the data from the Barnes test showed that rats exposed to this pesticide have a significant high number of errors and latency to reach the target hole ($P < 0.001$) compared to the control and the intoxicated treated rats, reflecting an achievement of learning and spatial memory performance. In conclusion, the extract of *Pimpinella anisum* L. has a beneficial effect on the nervous system of adult rats poisoned by imidacloprid.

Keywords Imidacloprid · *Pimpinella anisum* L. · Locomotor activity · Learning performance · Spatial memory

Introduction

Pimpinella anisum L. (anis) est une plante aromatique annuelle qui appartient à la famille des Apiaceae [1]. Elle est cultivée comme plante condimentaire pour ses graines aromatiques [2]. *Pimpinella anisum* L. a plusieurs effets thérapeutiques, cela est dû à son importante teneur en anéthol. Ces graines ont une action antioxydante, antiseptique, anti-inflammatoire, diurétique, anticonvulsivante, antidépressive, myorelaxante et des effets neuroprotecteurs [1,3,4].

Les insecticides sont l'un des principaux polluants de l'environnement. Bien qu'ils jouent un rôle important dans la protection des cultures contre les ravageurs, ils représentent une grave menace pour la santé humaine lorsqu'ils sont utilisés d'une façon irrationnelle [5,6].

L'imidaclopride (IMD) [1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitro-imidazolidin-2-ylidène-amine] est actuellement l'insecticide le plus utilisé au monde, il appartient à la famille des Néonicotinoïdes [7]. Sa toxicité sélective résulte de sa

N. Taibi (✉) · K. Kahloula · D. E. H. Adli · W. Arabi · M. Brahimi · M. Slimani
Laboratoire de biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologique des plantes, département de biologie, faculté des sciences, université Moulay-Taher, Saïda, Algérie
e-mail : taibinarimane@yahoo.com

grande affinité pour les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine chez les insectes par rapport aux mammifères. L'IMD agit sur les récepteurs nicotiques postsynaptiques de l'acétylcholine. Après sa liaison, les impulsions nerveuses sont spontanément libérées, suivies de l'incapacité du neurone à propager le moindre signal. L'activation prolongée du récepteur résulte de l'incapacité des acétylcholinestérases à décomposer le pesticide, ce processus de liaison est irréversible [8]. Il est actif à une très faible dose, et en fonction de la dose, l'inactivation du système nerveux peut entraîner la mort des personnes touchées directement, ou une série de troubles tels qu'incoordination, paralysie, perte d'orientation et la thermorégulation [6,9].

L'exposition à l'IMD entraîne des modifications biochimiques, histopathologiques et ultrastructurales marquées dans divers organes, de sorte qu'il s'est avéré être un agent puissant de la toxicité hépatique, néphrétique et neurologique. L'exposition chronique à l'IMD induit également une inflammation et un stress oxydatif dans le foie et le système nerveux central du rat [7].

L'intérêt de ce travail est d'évaluer l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. (EAP) sur des rats Wistar mâles adultes exposés à l'IMD, en se fondant sur une étude neurocomportementale.

Matériels et méthodes

Matériel végétal

Selon la méthode d'Hosseinzadeh et al. [10], l'EA a été préparé à partir des graines pulvérisées. En réalisant la méthode de décoction, 100 g de poudre ont été mélangés avec 100 ml d'eau distillée, le mélange a été mis sous agitation pendant 15 minutes avec (température < à 100 °C). Après refroidissement, le décocté obtenu est ensuite filtré, puis lyophilisé. Le rendement d'extraction était de 17,18 %.

Matériel chimique

L'insecticide testé est le « Confidor® OD » [CAS n° 138261-41-3] renfermant 19,42 % de matière active qui correspond à une concentration de 200 g/l de l'IMD, il est produit par la firme chimique allemande Bayer.

Répartition des groupes

Les expériences sont réalisées sur des rats mâles adultes de souche Wistar pesant 100 à 120 g. Ils sont disposés dans une animalerie ventilée, à une température de 21 ± 1 °C avec un éclairage artificiel qui établit un cycle jour/nuit (jour entre 7 et 19 h). Les animaux sont maintenus en période de stabilisation deux semaines avant l'expérimentation.

Ils ont été divisés au hasard en trois groupes comprenant chacun sept animaux ; EAP et IMD ont été administrés par gavage :

- groupe 1 : rats témoins reçoivent l'eau de boisson ;
- groupe 2 : rats traités par la dose 90 mg/kg d'IMD pendant 28 jours ;
- groupe 3 : rats intoxiqués par IMD pendant 28 jours qui sont ensuite traités par l'EAP pendant 15 jours à une dose de 500 mg/kg.

Tests de comportement

Test de l'open field

Ce test est réalisé afin d'évaluer l'activité locomotrice des rats. L'arène *utilisée* est une boîte rectangulaire ouverte (90 × 70 × 60 cm), à fond noir, et des lignes blanches au sol délimitaient des carreaux (10 × 10 cm). Chaque rat est initialement placé dans un des quatre coins de l'*open field*, la tête orientée vers un coin. Son comportement est observé pendant six minutes ; entre chaque essai, on nettoie la cage avec l'éthanol 70 %. Six paramètres sont mesurés par l'expérimentateur : le temps de latence (exprimé en secondes), le nombre total de carreaux traversés, le nombre de visites dans les neuf carreaux du centre, le nombre total de redressements, le nombre total de toilettages et le nombre total de défécations. Ce test analyse le comportement exploratoire du rat dans un espace clos. On l'utilise avant tout pour mesurer ses fonctions motrices, mais aussi, pour évaluer son degré d'anxiété. Un animal anxieux évite le centre du terrain qui est ouvert et reste au périphérique [11].

L'épreuve de la nage forcée

Le test de la nage forcée (Forced Swimming Test) est un modèle comportemental permettant la sélection de molécules à activité antidépressive [12]. Les rats sont placés individuellement pendant six minutes dans un cylindre en verre (hauteur : 39 cm, diamètre : 20,7 cm) rempli aux deux tiers d'eau à 22 ± 1 °C, dans lequel il n'y a aucune issue possible. L'animal est considéré comme étant immobile lorsqu'il flotte en position verticale et ne fait que quelques mouvements afin de maintenir sa tête hors de l'eau. Cette immobilité est interprétée comme étant le reflet d'un « désespoir comportemental », qui survient lorsque l'animal réalise qu'il pourrait ne pas s'en sortir. La durée d'immobilité est révélatrice du degré de désespoir chez l'animal (Fig. 1).

Labyrinthe de Barnes

Le labyrinthe de Barnes est une approche comportementale pour mesurer rapidement et efficacement l'apprentissage et

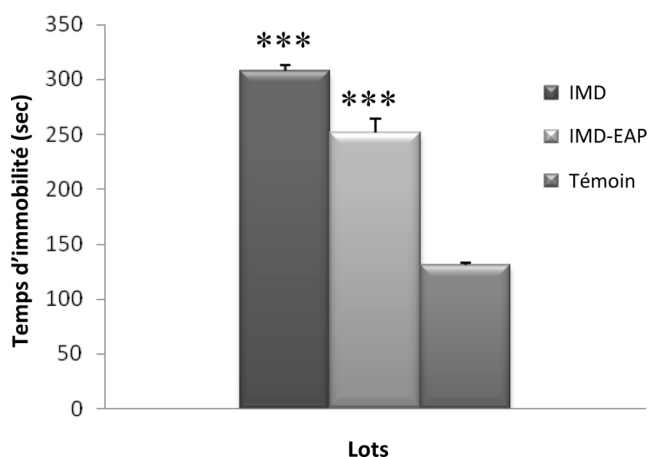


Fig. 1 Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée des rats témoins, intoxiqués par l'imidaclopride (90 mg/kg) et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) $p < 0,001$

la mémoire visuospatiale chez les rongeurs. Le dispositif est constitué d'une plateforme circulaire en bois (100 cm de diamètre, hauteur : 65 cm) élevée avec 12 trous égaux (diamètre du trou : 10 cm) situés à 9 cm de la bordure et séparés d'une distance constante. Sur ce dispositif, les rats utilisent des repères visuels extralabyrinthe pour localiser un trou équipé d'une cavité où il peut s'enfuir, cette dernière a été maintenue sous l'un des trous au bord de la plateforme. Cette boîte d'échappement est restée dans une position constante par rapport à la pièce tout au long du test [13]. Le rat est placé au centre de la plateforme dans une chambre fortement éclairée et riche en indices spatiaux localisés de manière constante. Le rat explore librement la plateforme jusqu'à trouver la cible dans laquelle il s'échappe. Le rat qui n'a pas trouvé la boîte cible en six minutes doit être guidé doucement vers son emplacement. Chaque rat réalise trois essais par jour pendant cinq jours. Tous les animaux sont restés dans la boîte cible pendant 60 secondes après leur entrée. Le sixième jour, les rats sont soumis à une première épreuve : le rat est déposé au centre de la plateforme de façon identique aux essais, mais les 12 trous sont bouchés. Deux paramètres sont mesurés : la latence nécessaire à l'animal pour rejoindre le trou donnant accès à la caisse, le nombre d'erreurs effectuées, c'est-à-dire le nombre de visites aux trous non reliés à la caisse (un trou est considéré comme visité lorsque le rat y passe la tête).

Dosage de l'imidaclopride au niveau cérébral

Chromatographie en phase liquide à haute performance

L'analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est réalisée sur un appareil Agilent 1260 équipé d'un système de pompe quaternaire, muni d'un

détecteur UV (272 nm), réalisée sur colonne Beckman Ultra-sphère[®], ODS, 5 μ \times 4,6 mm \times 25 cm. La phase mobile est isocratique, composée de 70 % d'eau et de 30 % d'acétonitrile, le débit est de 1 ml/min et le volume d'injection est de 20 μ l. Cette méthode d'analyse permet d'identifier et de quantifier l'IMD dans le cerveau des rats.

Résultats

Comportement de type dépressif (test de la nage forcée)

L'analyse statistique présente un temps d'immobilité (TIM) significativement ($p < 0,001$) supérieur chez les rats intoxiqués par l'IMD (90 mg/kg) par rapport à celui des rats témoins et intoxiqués traités (Fig. 1).

Évaluation d'un comportement d'exploration : test d'open field

L'exposition à l'IMD provoque une réduction significative ($p < 0,001$) du nombre de carreaux traversés et du nombre de redressements et une diminution significative ($p < 0,01$) du nombre de visites au centre, avec une augmentation significative ($p < 0,01$) du nombre de défécations chez les rats intoxiqués comparativement aux témoins. De plus, les données obtenues montrent qu'il n'y a aucun changement significatif sur le nombre de toilettes et le temps de latence chez tous les lots (Fig. 2).

Labyrinthe de Barnes

L'exposition à l'IMD induit chez les rats intoxiqués au cours du premier, troisième et le cinquième jour d'apprentissage une élévation significative respectivement ($p < 0,05$; $p < 0,001$; $p < 0,001$) du nombre d'erreurs comparativement aux rats témoins. De même, les rats intoxiqués par l'IMD puis traités par l'EAP ont un nombre d'erreurs significativement ($p < 0,001$) diminué au cours des troisième et cinquième jours par rapport aux rats intoxiqués. Dans le même contexte, les résultats relatifs à ce

Groupes	Temps de latence	Nombre de carreaux traversés	Nombre de carreaux visités au centre	Redressement	Toilette	Défécation
IMD	1,42 \pm 0,71	72,85 \pm 13,78***	0,42 \pm 0,29**	9,57 \pm 1,34***	6,57 \pm 1,26	4,28 \pm 0,74**
IMD-EAP	0,85 \pm 0,55	100,42 \pm 6,82	1,28 \pm 0,68	11,57 \pm 1,39	6,14 \pm 0,50	2,71 \pm 1,10
Témoins	1,28 \pm 0,74	161,28 \pm 7,99	6,71 \pm 2,62	22,42 \pm 4,30	5,42 \pm 0,84	1,28 \pm 0,42

Fig. 2 Effet de l'exposition à l'imidaclopride sur l'activité locomotrice (test *open field*) les rats témoins, intoxiqués, et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) $p < 0,001$; ** $p < 0,01$

test ne présentent aucune signification au cours des deuxième et quatrième jours (Fig. 3).

Au cours des premier, troisième, quatrième et cinquième jours d'apprentissage, les rats intoxiqués par l'IMD ont un temps passé avant de trouver la cible significativement ($p < 0,001$) supérieur à celui des rats témoins ainsi qu'au deuxième jour ($p < 0,01$). Par ailleurs, l'administration de l'EAP aux animaux exposés à l'IMD améliore de manière significative leurs performances d'apprentissage spatial comparés aux animaux intoxiqués non traités en termes de temps de séjour avant de trouver la cible au cours des troisième, cinquième ($p < 0,001$), et quatrième jours ($p < 0,05$) (Fig. 4).

Le traitement statistique des données concernant la phase de mémorisation a révélé que les animaux exposés à ce pesticide ont un temps passé avant de trouver la cible significativement ($p < 0,05$; $p < 0,001$) supérieur à celui des animaux intoxiqués traités et témoins (Fig. 5).

L'administration orale de l'extrait d'anis a provoqué une réduction significative ($p < 0,001$) du nombre d'erreurs chez le lot intoxiqué comparativement au lot intoxiqué non traité. Dans le même contexte, les animaux intoxiqués présentent un nombre d'erreurs significativement ($p < 0,01$) important par rapport à celui des animaux témoins (Fig. 6).

Les résultats obtenus concernant le dosage de l'IMD au niveau cérébral montrent une élévation significative ($p < 0,001$) du taux cérébral de l'IMD chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins et intoxiqués traités (Fig. 7).

Discussion

Le principal site d'action de l'IMD est le système nerveux [6]. Ce pesticide a montré des effets neurologiques et des troubles neurocomportementaux [14]. Les résultats enregistrés concernant le test de champ ouvert (*open field*) montrent que durant les six minutes, le pesticide a provoqué une diminution significative de l'activité locomotrice chez les rats

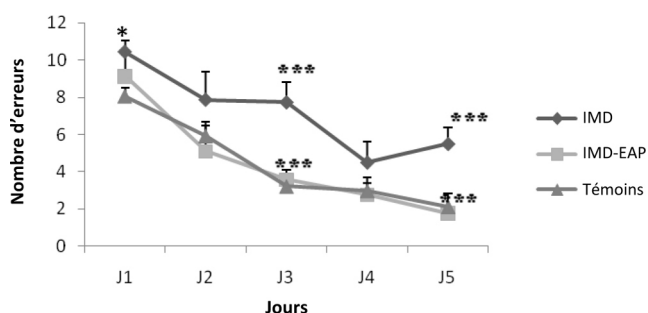


Fig. 3 Nombre total d'erreurs pour les rats témoins, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités au cours de la phase d'acquisition. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($*p < 0,05$; $***p < 0,001$)

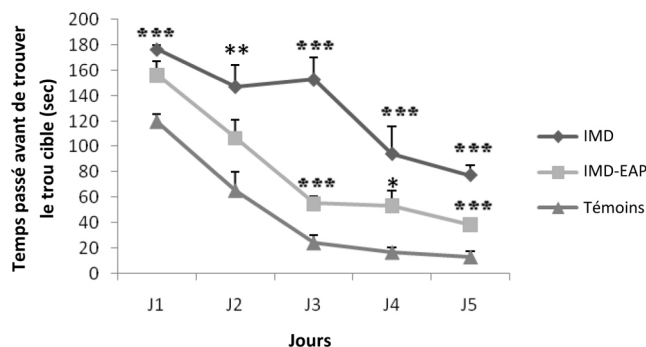


Fig. 4 Le temps de latence avant trouver le trou cible chez les rats témoins, intoxiqués (90 mg/kg d'IMD) et intoxiqués traités au cours de la phase d'acquisition. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($*p < 0,05$; $**p < 0,01$; $***p < 0,001$)

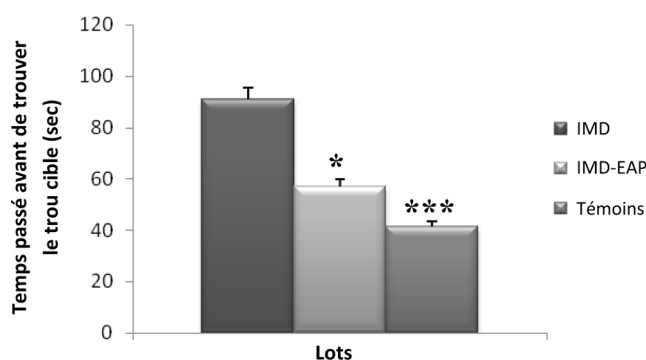


Fig. 5 Le temps d'exploration pour atteindre le trou cible lors de l'épreuve (sixième jour) chez les sujets témoins, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($*p < 0,05$; $***p < 0,001$)

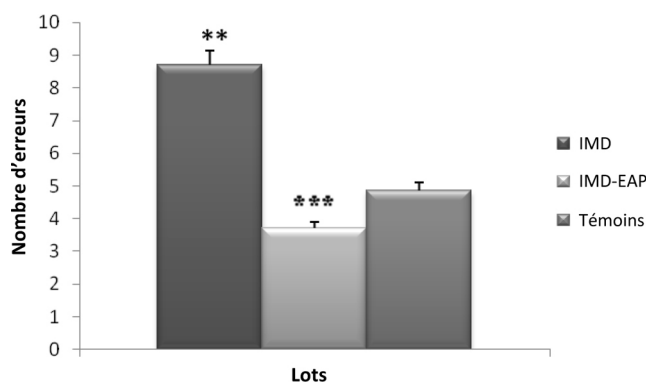


Fig. 6 Le nombre d'erreurs lors de l'épreuve (sixième jour) chez les rats témoins, intoxiqués et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($**p < 0,01$; $***p < 0,001$)

intoxiqués, ces résultats sont en accord avec les travaux de Lonare et al. [14] et de Bhardwaj et al. [15] qui ont montré une diminution d'activités horizontale et verticale chez les rats exposés à l'IMD. La réduction d'activité locomotrice a

Groupes	Temps de rétention en min	Concentration $\mu\text{g},\text{g}^{-1}$
Témoin	6.880	0,000
IMD	6.880	39.220±2,90***
IMD-EAP	6.880	17.930±1,450

Fig. 7 Analyse de l'imidaclopride dans le cerveau par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) chez les rats témoins intoxiqués (90 mg/kg d'IMD) et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) $p < 0,001$

révélé l'accumulation de l'IMD ou de ses métabolites dans le cerveau [15]. Brunet et al. [16] ont également signalé que l'IMD est fortement absorbé dans les cellules intestinales humaines suggérant ses effets potentiels ; et d'après Taparia [17], il induit une douleur et une faiblesse musculaire. L'administration de l'EA d'anis vert a augmenté cette activité, mais d'une façon non significative. Nos résultats concordent avec celles obtenues par Gamberini et al. [3]. Boskabady et Ramazani-Assari, [18] ont trouvé que l'huile essentielle d'anis (HEA) a un effet relaxant musculaire par l'inhibition des récepteurs muscariniques d'acétylcholine.

Cependant, il a été démontré que *Pimpinella anisum* L. peut améliorer l'activité Na^+/K^+ ATPase [19], elle joue un rôle important dans la régulation de l'excitabilité neuronale.

En ce qui concerne le test de la nage forcée, les rats intoxiqués par l'IMD ont un TIM significativement plus important que les rats témoins. L'incapacité de nager est un désespoir comportemental qui prouve l'effet dépressif de l'IMD, cela est similaire avec l'étude de Karatas [20], qui a montré que l'IMD provoque une légère dépression du système nerveux. Le désordre dépressif est lié à un dysfonctionnement ou à un hypofonctionnement du système sérotoninergique [21,22]. Sachant que les récepteurs neuronaux de l'acétylcholine nicotinique (nAChRs) font partie de la famille des récepteurs ionotropes « Cys-loop » incluant les récepteurs à la sérotonine (de type 5-HT₃) [23,24], l'IMD peut provoquer des perturbations au niveau du système sérotoninergique.

En revanche, les rats intoxiqués par la dose de 90 mg/kg et traités par l'extrait d'anis ont une réduction significative du TIM. Cela est en accord avec l'étude de Samojlik et al. [25] qui ont trouvé que l'HEA a un effet antidépressif. Selon Kahloula et al. [26], l'anis vert possède un effet neuroprotecteur qui est probablement dû à l'amélioration de la modulation des fonctions NMDA telles que l'activation des sites des récepteurs NMDA. L'HEA peut induire l'excitabilité neuronale, qui a été attribuée à l'activation des canaux Ca^{2+} ou à l'inhibition du canal dépendant de la tension $\text{Ca}^{2+}/\text{K}^+$ [27].

Par ailleurs, le test de Barnes est un test qui évalue l'apprentissage et la mémoire spatiale, ce dispositif a montré que durant la phase d'acquisition et le jour d'épreuve, les résultats enregistrés dévoilent un nombre d'erreurs et un temps de latence pour rejoindre la cible significativement supérieurs chez les animaux exposés à l'IMD comparés aux animaux

témoins et intoxiqués traités par l'EA. Cela montre clairement que ce pesticide diminue d'une façon importante les performances d'apprentissage spatial et la mémorisation au cours de ce test. Ces observations s'opposent avec les travaux de Beer et al. [28], Kutlu et Gould [29] et concordent avec celles de Mondal et al [30] qui démontrent la réduction des capacités d'apprentissage après l'exposition à l'acétamipride (insecticide néonicotinoïde), et Taparia [17] qui a révélé que l'exposition aux néonicotinoïdes, à savoir l'IMD et l'acétamipride, provoque une altération de la mémoire à court terme. Selon les études réalisées par Decourtye et al. [31], Decourtye et al. [32], et Farooqui [33], l'administration du néonicotinoïde, l'IMD, altère l'apprentissage et la mémoire olfactifs chez les abeilles. Les récepteurs nicotinniques de l'acétylcholine (cible d'IMD) sont largement distribués dans tout l'hippocampe [34]. Ils ont un rôle dans l'encodage des nouveaux souvenirs après leur activation [35].

D'après Mondal et al. [30], l'acétamipride agit de façon agoniste sur les récepteurs neuronaux du nAChRs. La disponibilité de l'acétamipride dans l'hippocampe ouvre les récepteurs ionotropes, cela est suivi par un flux positif d'ions dans la cellule, entraînant une excito-toxicité. Mais une ouverture répétitive du nAChR provoquant une désensibilisation du récepteur et du canal ionique et évitant ainsi l'écoulement de Ca^{2+} à travers la membrane. La désensibilisation est une propriété commune des nAChR [36]. Cependant, les neurotransmetteurs inhibiteurs tels que l'acide γ -aminobutyrique et la glycine libérés au niveau synaptique par les synoptosomes rentrent en compétition avec le glutamate. L'effet néfaste sur les interneurons GABAergiques conduit à des déficits d'apprentissage et de mémoire chez la souris [37].

Par contre, l'EAP a amélioré d'une façon significative les performances d'apprentissage et de la mémoire spatiale. Parmi de nombreuses huiles végétales, l'anis a des effets bénéfiques sur les troubles de la mémoire, la dépression, l'ischémie cérébrale et la maladie d'Alzheimer [38].

En outre, la détermination par HPLC du taux de l'IMD au niveau cérébral nous a permis de constater que le taux de ce néonicotinoïde dans le cerveau est significativement supérieur à celui des rats témoins. Cela est en accord avec Testud et Grillet [39], Badawy et al. [8] qui ont prouvé que l'IMD inhibe la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses cholinergiques en se liant de manière irréversible aux récepteurs nicotinniques postsynaptiques de l'acétylcholine.

Cependant, le traitement par l'EAP a permis de réduire le taux de l'IMD au niveau cérébral chez les rats intoxiqués. L'effet agoniste de l'IMD sur les récepteurs nicotinniques de l'acétylcholine va aboutir à un surplus d'acétylcholine, ce dernier est normalement dégradé par l'acétylcholinestérase. Le trans-anéthol en tant que composant majeur de *Pimpinella anisum* L. est un anticholinestérasique agissant par l'inhibition de l'acétylcholinestérase [40]. L'inhibition de

son action entraîne un allongement de la durée d'action de l'acétylcholine, une très grande quantité de cela pourrait donc en être la cause pour que l'acétylcholine entre en compétition avec l'IMD sur le même site de fixation, ce dernier sera détaché et l'influx nerveux se propagera normalement.

Conclusion

À travers cette expérimentation, nous pouvons conclure que l'EAP pourrait avoir un effet bénéfique potentiel sur les troubles neurologiques causés par l'intoxication à l'IMD.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- Bekara A, Ait Hamadouche N, Kahloula K, et al (2016) Nephro-protective effect of *Pimpinella anisum* L. aqueous extract against lead toxicity: in vivo study. *Int J Green Pharm* 10:2-86
- Arslan N, Gürbüz B, Bayrak A, et al (2004) Variation in essential oil content and composition in Turkish anise (*Pimpinella anisum* L.) populations. *Turk J Agric For* 28:173-7
- Gamberini MT, Rodrigues DS, Rodrigues D (2015) Effects of the aqueous extract of *Pimpinella anisum* L. seeds on exploratory activity and emotional behavior in rats using the open field and elevated plus maze tests. *J Ethnopharmacol* 168:45-9
- Rebey IB, Wannas WA, Kaab SB, et al (2019) Bioactive compounds and antioxidant activity of *Pimpinella anisum* L. accessions at different ripening stages. *Sci Hort* 246:453-61
- Taparia N, Mathur L, Shahani L (2014) Toxic action of quinalphos 25% ec (flash), an organophosphate insecticide in induction of skeletal malformations in the embryos of *Gallus domesticus*. *World J Pharm Pharm Sci* 3:2078-88
- García K, Salazar M, García J (2018) Efecto del neonicotinoide-tiametoxam en el desarrollo embrionario del pez cebrá (Danio Rerio). *Toxicología* 35:22-7
- Ahmed MM, Nasr SA (2015) Protective effect of broccoli and ferulic acid on imidacloprid-induced neurotoxicity in rats. *J Biomed Pharm Res* 4:82-9
- Badawy MH, Ahmed NS, Attia AM (2018) Sub-acute oral toxicity of imidacloprid and fipronil pesticide mixture in male albino rats; biochemical and reproductive toxicity evaluation. *J Mater Environ Sci* 9:2431-7
- Gómez A (2013) Neonicotinoides versus abejas. Consultores apícolas, asistencia técnica y formación. Castellón, España, 179:36-40
- Hosseinzadeh, H, Tafaghodi M, Abedzadeh S, et al (2014) Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Pimpinella anisum* L. seeds on milk production in rats. *J Acupunct Meridian Stud* 7:211-6
- Kahloula K, Adli DEH, Slimani M, et al (2014) Effet de l'exposition chronique au nickel sur les fonctions neurocomportementales chez les rats Wistar pendant la période de développement. *Toxicol Anal Clin* 26:186-92
- Porsolt R, Le Pichon M, Jalifre M (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266:730
- Patil SS, Sunyer B, Höger H, et al (2009) Evaluation of spatial memory of C57BL/6J and CD1 mice in the Barnes maze, the multiple T-maze and in the Morris water maze. *Behav Brain Res* 198:58-68
- Lonare M, Kumar M, Raut S, et al (2014) Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: a protective effect of curcumin. *Neurochem Int* 78:122-9
- Bhardwaj S, Srivastava MK, Kapoor U, et al (2010) A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food Chem Toxicol* 48:1185-90
- Brunet JL, Maresca M, Fantini J, et al (2004) Human intestinal absorption of imidacloprid with Caco-2 cells as enterocyte model. *Toxicol Appl Pharmacol* 194:1-9
- Taparia K (2014) Human neonicotinoid exposure in Japan. *Jpn Clin Ecol* 23:14-24
- Boskabady M, Ramazani-Assari M (2001) Relaxant effect of *Pimpinella anisum* on isolated guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *J Ethnopharm* 74:83-8
- Karimzadeh F, Hosseini M, Mangeng D, et al (2012) Anticonvulsant and neuroprotective effects of *Pimpinella anisum* in rat brain. *BMC Complement Altern Med* 12:76
- Karatas AD (2009) Severe central nervous system depression in a patient with acute imidacloprid poisoning. *Am J Emerg Med* 27:1171.E5-1171.E7
- Gardier AM, Jacquot C, Artigas F (1995) Base neurobiologique du rôle des récepteurs 5-HT_{1A} dans le mode d'action des anti-dépresseurs sérotoninergiques
- Guichenez P, Perriot J, Quantin X, et al (2006) Troubles anxieux et dépressifs dans l'aide à l'arrêt du tabagisme. *Lettre du pneumologue* 9:200-6
- Le Novère N, Changeux JP (2001) LGICdb: the ligand-gated ion channel database. *Nucleic Acids Res* 29:294-5
- Raymond V, Sattelle DB (2002) Novel animal-health drug targets from ligand-gated chloride channels. *Nat Rev Drug Discov* 1:427-36
- Samojlik I, Mijatović V, Petković S, et al (2012) The influence of essential oil of aniseed (*Pimpinella anisum* L.) on drug effects on the central nervous system. *Fitoterapia* 83:1466-73
- Kahloula K, Slimani M, Adli DEH, et al (2013) Neuro beneficial effects of *Pimpinella anisum* against lead exposure. *Int J Green Pharm* 7:18-24
- Janahmadi M, Farajnia S, Vatanparast J (2008) The fruit essential oil of *Pimpinella anisum* L.(umbelliferae) induces neuronal hyperexcitability in snail partly through attenuation of after-hyperpolarization. *J Ethnopharmacol* 120:360-5
- Beer AL, Vartak D, Greenlee MW (2013) Nicotine facilitates memory consolidation in perceptual learning. *Neuropharmacology* 64:443-51
- Kutlu MG, Gould TJ (2015) Nicotine modulation of fear memories and anxiety: implications for learning and anxiety disorders. *Biochem Pharmacol* 97:498-511
- Mondal S, Sengupta T, Pradhan S, et al (2014) Impaired learning and memory after a week-long exposure of acetaminophen in adult rats. *Adv Anim Vet Sci* 2:543-8
- Decourtye A, Lacassie E, Pham-Delegue MH (2003) Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L.) are differentially affected by imidacloprid according to the season. *Pest Manag Sci* 59:269-78
- Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, et al (2004) Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicol Environ Saf* 57:410-9
- Farooqui T (2013) A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: a unique hypothesis. *Neurochem Int* 62:122-36

34. Kenney JW, Gould TJ (2008) Modulation of hippocampus-dependent learning and synaptic plasticity by nicotine. *Mol Neurobiol* 38:101–21
35. Hasselmo ME (2006) The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 16:710–5
36. Xiao C, Srinivasan R, Drenan R (2011) Characterizing functional $\alpha 6\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors in vitro: mutant $\beta 2$ subunits improve membrane expression, and fluorescent proteins reveal responsive cells. *Biochem Pharmacol* 82: 852–61
37. Knoferle J, Yoon SY, Walker D (2014) Apolipoprotein E4 produced in gabaergic interneurons causes learning and memory deficits in mice. *J Neurosci* 34:14069–78
38. El-Hodairy F (2014) Neuroprotective effects of *Pimpinella anisum* on neurotoxicity induced by bisphenol a on normal and diabetic rats. *Int J Pharm Pharm Sci* 6:9–12
39. Testud F, Grillet J (2007) Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes de synthèse et divers. *Encycl Med Chir* 16:059-C-10
40. Goetz P (2011) Actualités en phytothérapie. *Phytothérapie* 9:189–91