HAL
open science

La nigelle, une épice d'intérêt médicinal

Fabienne Orsi-Llinares

To cite this version:

Fabienne Orsi-Llinares. La nigelle, une épice d'intérêt médicinal. Sciences pharmaceutiques. 2006. dumas-00782093

HAL Id: dumas-00782093

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00782093

Submitted on 29 Jan 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Joseph Fourier GRENOBLE PHARMACIE

SICD1 Bibliothèques de l'UJF et de Grenoble INP

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : thesebum@ujf-grenoble.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année : 2004-2005 **N°**

LA NIGELLE,
UNE EPICE D'INTERET MEDICINAL

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT

Fabienne ORSI – LLINARES
Née le 27 décembre 1971 **à Grenoble**

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT
A LA FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Le 22 juin 2005

DEVANT LE JURY COMPOSE DE :

Président du jury :	**Anne-Marie MARIOTTE**	**Professeur**
Membres :	**Annick VILLET**	**Maître de conférence**
	Christiane PEYRAMOND	**Dr en pharmacie**

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté : M. le Professeur **P.DEMENGE**
Vice-Doyenne : **Mme A.VILLET**

PROFESSEURS DE PHARMACIE

BAKRI	Abdelaziz	Pharmacie Galénique
BENOIT-GUYOD	Jean-Louis	(Emérite)
BURMEISTER	Wilhelm	Biophysique
CALOP	Jean	Pharmacie Clinique et Bio-Technique
DANEL	Vincent	Toxicologie
DECOUT	Jean-Luc	Chimie Bio-Inorganique
DEMENGE	Pierre	Physiologie / Pharmacologie
DROUET	Emmanuel	Immunologie / Microbiologie / Biotechnologie
FAVIER	Alain	Biochimie / Biotechnologie
GOULON	Chantal	Biophysique
GRILLOT	Renée	Parasitologie
LECLERC	Gérard	Chimie Organique
MARIOTTE	Anne-Marie	Pharmacognosie
PEYRIN	Eric	Chimie Analytique
RIBUOT	Christophe	Physiologie / Pharmacologie
ROUSSEL	Anne-Marie	Biochimie
SEIGLE-MURANDI	Françoise	Botanique et Cryptogamie
STEIMAN	Régine	Biologie Cellulaire
WOUESSIDJEWE	Denis	Pharmacie Galénique

PROFESSEUR ASSOCIE (PAST)

CHAMPON	Bernard	Pharmacie Clinique

Mise à jour du 06/10/2004

MAITRES DE CONFERENCES DE PHARMACIE

ALDEBERT	Delphine	Parasitologie
ALLENET	Benoit	Pharmacie Clinique
BARTOLI	Marie-Hélène	Pharmacie Clinique et Biotechn.
BOUMENDJEL	Ahcène	Pharmacognosie
CARON	Cécile	Biologie Moléculaire
CHOISNARD	Luc	Pharmacotechnie et génie de la formulation
DELETRAZ	Martine	Droit Pharmaceutique Economie
DEMEILLERS	Christine	Biochimie
DESIRE	Jérôme	Chimie Bioorganique
DIJOUX-FRANCA	Marie-Geneviève	Pharmacognosie
DURMORT-MEUNIER	Claire	Virologie
ESNAULT	Danielle	Chimie Analytique
FAURE	Patrice	Biochimie
FAURE-JOYEUX	Marie	Physiologie - Pharmacologie
FOUCAUD-GAMEN	Jacqueline	Immunologie
GEZE	Annabelle	Pharmacotechnie Galénique
GERMI	Raphaële	Bactériologie
GILLY	Catherine	Chimie Thérapeutique
GODIN-RIBUOT	Diane	Physiologie - Pharmacologie
GROSSET	Catherine	Chimie Analytique
GUIRAUD	Pascale	Biologie Cellulaire et Génétique
HININGER-FAVIER	Isabelle	Biochimie
KRIVOBOK	Serge	Botanique - Cryptogamie
MORAND	Jean-Marc	Chimie Thérapeutique
NICOLLE	Edwige	Chimie Organique / Chimie Thérapeutique
PINEL	Claudine	Parasitologie
RAVEL	Anne	Chimie Analytique
RAVELET	Corinne	Chimie Analytique
RICHARD	Jean-Michel	
RIONDEL	Jacqueline	Physiologie - Pharmacologie
SEVE	Michel	Ens.Physique / Rech.Biochimie
VANHAVERBEKE	Cécile	Chimie Bio-Inorganique
VILLEMAIN	Danielle	Mathématique / Informatique
VILLET	Annick	Chimie Analytique

PROFESSEUR AGREGE (PRAG)

ROUTABOUL	Christel	Chimie Générale

Mise à jour du 06/10/2004

Remerciements

à Mme le Professeur Anne-Marie Mariotte, Président du jury et Directeur de thèse :

Pour son enseignement et son savoir précieux ;

Pour m'avoir permis, enfin, de réaliser cette thèse.

à Mme Annick Villet, Maître de conférence en Chimie analytique :

Pour avoir spontanément et très aimablement accepté de faire partie du jury.

à Mme Christiane Peyramond, Docteur en Pharmacie :

Pour son accueil chaleureux et pour la place qu'elle réserve à la phytothérapie au sein de son officine.

Ma reconnaissance profonde et particulière va à celui qui, quotidiennement et tendrement, me soutien et m’accompagne.

Je remercie très sincèrement toutes les personnes qui d’une façon ou d’une autre, ont participé à l’élaboration de ce travail.

ERRATA

Page 6, paragraphe 1.2.2 :

Lire :

- Tribu des **Hellébores** et des **Paeoniées :**
  Les carpelles sont peu nombreux, pluriovulés et disposés en verticille.

Page 18, paragraphe 2.1 :

Lire :

L'analyse des mono, di et triacylglycérols est réalisée par une CLHP couplée à un détecteur par ionisation de flamme ou par chromatographie gaz-liquide.

Page 18, paragraphe 2.2 :

Lire :

L'indice de saponification est la masse d'hydroxyde de potassium (en mg) nécessaire pour saponifier les fonctions esters contenues dans 1g de lipides selon la réaction suivante :

Page 27, paragraphe 2.11.2 :

Lire :

Ce qui fait une teneur totale en phénols (thymohydroquinone + thymol) de **98,87 µg/g**. Ceci est inférieur à la valeur déterminée dans l'étude du paragraphe précédent.
Ces différences peuvent provenir soit de variations expérimentales ou de variations chimiques de la composition ; ou bien ceci signifie que l'huile contient d'autres phénols que ces 2 composés (nous verrons que l'huile essentielle peut renfermer du carvacrol).

Page 67, paragraphe 4.3.2 :

Lire :

- **Etude des récepteurs**
  - La TQ agit en diminuant le tonus GABAergique via la stimulation des récepteurs aux opioïdes.

Page 72, paragraphe 5.2.3 :

Lire :

L'élévation de la FR (*et non de la PIT*) par l'HE serait due à d'autres composés que la TQ comme par exemple les monoterpènes.

Page 122, paragraphe 1.2.3 :

Lire :

- **Hémoglobine**
- Chez l'homme : pas de modification significative au bout d'une semaine, mais qui pourrait le devenir au-delà.
- Chez la femme : élévation significative au bout de 14 jours et plus marquée avec l'huile ($P \leq 0,01$).

Page 129, paragraphe 6 :

Dans le tableau 47 :
baisse de la créatinine sanguine : supprimer « effet transitoire avec les graines »

Page 132, paragraphe 1.1.2 :

Lire :

- **Effets abortifs** (pour une dose par v.o. de 60 g de graines en 2 prises).

Table des matières

INTRODUCTION **1**

CHAPITRE 1 : BOTANIQUE **3**

1 LA PLACE DANS LA SYSTEMATIQUE 4
1.1 Ordre des Ranales 4
1.2 Famille des Renonculacées 6
1.3 Les différentes espèces 7
1.4 Nigella sativa L. 10
2 CULTURE 12
3 LA DROGUE 12
3.1 Caractéristiques 12
3.2. Inscription aux différentes pharmacopées 13

CHAPITRE 2 : CHIMIE **14**

1 COMPOSITION GENERALE 15
1.1 Minéraux 15
1.2 Vitamines 16
1.3 Protéines 16
2 L'HUILE 18
2.1 Généralités et méthodes d'analyse 18
2.2 Caractéristiques physico-chimiques de l'huile 18
2.3 Composition générale 19
2.4 Acides gras libres 19
2.5 Les triacylglycérols 21
2.6 Mono- et di-acylglycérols 21
2.7 Phospholipides 22
2.8 Glycolipides 23
2.9 Stérols 25
2.10 Tocophérols 26
2.11 Composés phénoliques et quinoniques 27
2.12 Conclusion 28
3 HUILE ESSENTIELLE 29
3.1 Caractéristiques 29
3.2 Composition 29
3.3 Variations de la composition 30
3.4 Conclusion 32
4 SAPONOSIDE 34
5 ALCALOÏDES 36
5.1 Historique 36
5.2 Alcaloïdes isoquinoléiques et indazoliques 36
5.3 Alcaloïdes diterpéniques type-dolabellane 37
5.4 Conclusion 38
6 COMPOSES PHENOLIQUES 39
6.1 Flavonoïdes 39
6.2 Isobenzofuranone 40
6.3 Hydroxyacétophénone 41
7 CONCLUSION 42

CHAPITRE 3 : PHARMACOLOGIE **43**

1 ACTION ANTIOXYDANTE 44
1.1 Les objectifs 44
1.2 Les tests utilisés 44
1.3 Les résultats 45
1.4 Applications 49
1.4.1 Vieillissement des fonctions hépatiques et rénales 49
1.4.2 Hépatoprotection 50
1.4.3 Néphroprotection 53
1.4.4 Conclusion 56

2 ACTION IMMUNOMODULATRICE 57
3 ACTIONS ANTI-INFLAMMATOIRE ET ANTIPYRETIQUE 59
3.1 Les tests 59
3.2 Les résultats 59
3.3 Mécanisme d'action 61
3.4 Effet antipyrétique 62
3.5 Conclusion 63
4 ACTION SUR LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL 64
4.1 Action sédative 64
4.2 Action antalgique 65
4.3 Action anticonvulsivante 67
4.4 Conclusion 68
5 ACTIONS RESPIRATOIRES 69
5.1 Action bronchodilatatrice 69
5.2 Action sur la fréquence respiratoire et la pression intra-trachéale 71
5.3 Action sur la libération d'histamine 72
5.4 Action antitussive 73
5.5 Conclusion 73
6 ACTIONS SUR LE SYSTEME DIGESTIF 74
6.1 Muqueuse gastrique 74
6.2 Colite 76
6.3 Action sur le muscle jéjunal 76
6.4 Action hépatique 77
6.5 Conclusion 77
7 ACTION HYPOGLYCEMIANTE 78
7.1 Les protocoles 78
7.2 Les résultats 79
7.3 Chez les animaux non diabétiques 80
7.4 Actions complémentaires 81
8 ACTIONS CARDIOVASCULAIRES ET SUR LES PARAMETRES DU SANG 82
8.1 Action sur la tension et la fréquence cardiaque 82
8.2 Action hypolipémiante 83
8.3 Action sur l'hémostase 85
8.4 Action sur les paramètres du sang 86
8.5 Action sur l'hyperhomocystéinémie 87
8.6 Cardioprotection 87
8.7 Conclusion 88
9 ACTIONS CYTO-TOXIQUES ET ANTI-TUMORALES 89
9.1 Les tests 89
9.2 Résultats 90
9.3 Mécanismes d'action 93
9.4 Conclusion 95
10 PROPRIETES ANTI-INFECTIEUSES 96
10.1 Propriétés antibactériennes 96
10.2 Propriétés antifongiques 99
10.3 Propriétés antivirales 101
10.4 Conclusion 101
11 PROPRIETES ANTIPARASITAIRES 102
12 ACTION SUR LES FONCTIONS DE REPRODUCTION 104
12.1 Action sur la production de lait 104
12.2 Action sur la gestation, action abortive 104
12.3 Action utérorelaxante 106
12.4 Conclusion 107
13 RESUME DES ACTIVITES PHARMACOLOGIQUES 108

CHAPITRE 4 : TOXICOLOGIE 110

1 COMPARAISON ENTRE LES DIFFERENTS EXTRAITS 111
2 TOXICITE DE L'HUILE 112
3 TOXICITE DE L'EXTRAIT A L'ETHER DE PETROLE 113
4 TOXICITE DE L'HUILE ESSENTIELLE 114
5 TOXICITE DE LA THYMOQUINONE 115
6 TOXICITE DE L'EXTRAIT AQUEUX 116

7 TOXICITE DES GRAINES 117
8 CONCLUSION 118

CHAPITRE 5 : ESSAIS CLINIQUES 119

1 ACTIONS SUR DIFFERENTS PARAMETRES 120
1.1 Protocole 120
1.2 Résultats 120
1.2.1. Glycémie 120
1.2.2 Lipides sanguins 121
1.2.3 Cellules sanguines et hémostase 121
1.2.4. Enzymes 123
1.2.5 Créatinine 124
1.2.6 Prolactine 124
1.3 Discussion 124
2 ACTION DANS L'ALLERGIE 125
2.1 Protocole 125
2.2 Résultats 126
2.3 Discussion 127
3 ACTION ANTIPARASITAIRE 127
4 ACTION CHEZ LA FEMME 128
4.1 Action abortive 128
4.2 Action sur la prolactine 128
5 CONCLUSION 129
6 RESUME DES EFFETS CLINIQUES 129

CHAPITRE 6 : EFFETS INDESIRABLES 131

1 SELON LES ESSAIS CLINIQUES 132
2 SELON LES ETUDES PHARMACOLOGIQUES 132
3 SELON LA PHARMACOVIGILANCE 133

CHAPITRE 7 : UTILISATIONS 135

1 USAGES CULINAIRES 136
2 USAGES TRADITIONNELS 137
2.1 Les usages 137
2.2 Discussion 138
2.2.1 Usages selon les essais cliniques 138
2.2.2 Usages selon les études pharmacologiques 139
2.2.3 Usages non confirmés 140
2.2.4 Remarques 141
3 FORMES GALENIQUES COMMERCIALISEES EN FRANCE ET INDICATIONS 141
3.1 Produits et laboratoires 141
3.2 Posologie 142
3.3 Indications 142
3.4 Remarques 143
3.5 Conclusion 143

CONCLUSION 144

BIBLIOGRAPHIE 146

ANNEXE I : STÉROLS FORMULES 156
ANNEXE II : LABORATOIRES 159

Index des tableaux

FIGURE 1 : *NIGELLA SATIVA* L. PLANTE ENTIERE 2
FIGURE 2 : CLASSIFICATION BOTANIQUE SELON BENTHAM ET HOOKER 5
FIGURE 3 : DIFFERENTES ESPECES DE NIGELLE : *NIGELLA DAMASCENA*, *NIGELLA SATIVA* 8
FIGURE 4 : *NIGELLA ARVENSIS* 8
FIGURE 5 : *NIGELLA HISPANICA* 9
FIGURE 6 : FLEUR DE *NIGELLA SATIVA* L. 11
FIGURE 7 : GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 13
TABLEAU 1 : COMPOSITION GENERALE DES GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 15
TABLEAU 2 : COMPOSITION MINERALE DES GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 15
TABLEAU 3 : TENEUR EN VITAMINES ET VALEURS NUTRITIONNELLES DES GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 16
TABLEAU 4 : REPARTITION EN ACIDES AMINES DES PROTEINES DE GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 17
TABLEAU 5 : PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DE L'HUILE DE GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 18
TABLEAU 6 : POURCENTAGE DES DIFFERENTES CLASSES DE LIPIDES DE L'HUILE DES GRAINES DE *NIGELLA SATIVA* SUIVANT LA METHODE D'EXTRACTION. 19
TABLEAU 7 : COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES GRAINES DE *NIGELLA SATIVA* D'ARABIE. 20
TABLEAU 8 : COMPOSITION EN ACIDES GRAS (EN POURCENTAGE) DE L'HUILE DE GRAINES DE *NIGELLA SATIVA* D'EGYPTE. 20
TABLEAU 9 : ETUDE DES TRIACYLGLYCEROLS DE L'HUILE DE GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 21
TABLEAU 10 : COMPOSITION EN MONOACYLGLYCEROLS ET DIACYLGLYCEROLS (EN POURCENTAGE) DE L'HUILE DE GRAINES DE *NIGELLA SATIVA* EXTRAITE PAR 2 METHODES DIFFERENTES. 22
TABLEAU 11 : DIFFERENTES CLASSES DE PHOSPHOLIPIDES DE L'HUILE DES GRAINES DE *NIGELLA SATIVA* 22
TABLEAU 12 : LES DIFFERENTES CLASSES DE GLYCOLIPIDES (GL) DE L'HUILE DES GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 23
TABLEAU 13 : LES FRACTIONS STEROLS DE L'HUILE DE GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 25
TABLEAU 14 : NATURE DES STEROLS ET TRITERPENES CONTENUS DANS L'HUILE DE GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 26
TABLEAU 15 : COMPOSITION EN TOCOPHEROLS DE L'HUILE DE GRAINES DE *NIGELLA SATIVA* D'EGYPTE 27
TABLEAU 16 : TENEUR EN QUINONES D'UNE HUILE COMMERCIALE DE GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 27
TABLEAU 17 : COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE GRAINES DE *NIGELLA SATIVA*. 29
TABLEAU 18 : EFFETS DE LA THYMOQUINONE ET DE LA SYLIBINE SUR LES TRANSAMINASES ET LE GLUTATHION REDUIT (EN NMOL/MG DE PROTEINE) D'HEPATOCYTES ISOLES DE RATS AU BOUT DE 120 MINUTES. 52
TABLEAU 19 : EFFETS SUR DIFFERENTS PARAMETRES, DE LA THYMOQUINONE (12,5 MG/KG EN I.P.) ADMINISTREE A DES SOURIS 1HEURE AVANT INJECTION I.P. DE CCL_4 (15 µL/KG) 52
TABLEAU 20 : EFFET DE L'IFOSFAMIDE ET/OU DE LA THYMOQUINONE SUR QUELQUES PARAMETRES BIOCHIMIQUES. 54
TABLEAU 22 : EFFET CHEZ LE RAT DE L'ADMINISTRATION DE THYMOQUINONE SUR LA NEPHROTOXICITE INDUITE PAR LE CISPLATINE. 55
TABLEAU 23 : VARIATIONS BIOCHIMIQUES CHEZ LES RATS TRAITES PAR GENTAMICINE ET/OU L'HUILE DE NIGELLE. 55
TABLEAU 24 : EFFETS DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DE LA THYMOQUINONE EN INJECTION I.P. SUR L'ŒDEME ET LE GRANULOME DU RAT. 59
TABLEAU 25 : EFFET DE LA THYMOQUINONE (EN I.P. 60 MINUTES AVANT INJECTION DU PENTYLENETETRAZOLE) SUR LA CRISE D'EPILEPSIE INDUITE PAR LE PENTYLENETETRAZOLE CHEZ LA SOURIS 67
TABLEAU 26 : EFFET DE L'HUILE ESSENTIELLE SUR LA FREQUENCE RESPIRATOIRE DE COBAYES. 71
TABLEAU 27 : EFFET DE L'HUILE ESSENTIELLE SUR LA PRESSION INTRA-TRACHEALE DE COBAYES. 71
TABLEAU 28 : EFFET DE L'HUILE DE NIGELLE ET DE LA THYMOQUINONE SUR LA LESION DE LA MUQUEUSE GASTRIQUE 1 ET 24 HEURES APRES ISCHEMIE/REPERFUSION CHEZ LE RAT. 75
TABLEAU 29 : EFFET DE LA THYMOQUINONE EN PRE-TRAITEMENT PAR VOIE ORALE SUR LA COLITE INDUITE PAR L'ACIDE ACETIQUE CHEZ LE RAT. 76
TABLEAU 30 : EFFET DE L'HUILE DE NIGELLE SUR DIFFERENTS PARAMETRES SANGUINS CHEZ LE RAT. 86
TABLEAU 31 : ACTIVITE ANTITUMORALE DU TRAITEMENT PAR IFOSFAMIDE ET/OU THYMOQUINONE CHEZ DES SOURIS PORTEUSES DE TUMEURS ASCITIQUES 94
TABLEAU 32 : ACTION ANTI-BACTERIENNE DE L'HUILE ESSENTIELLE, DE L'HUILE ET DE LA MATIERE INSAPONIFIABLE DE GRAINES DE NIGELLE. 97
TABLEAU 33 : EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE GRAINES DE NIGELLE SUR DES SOURIS PORTEUSES DE CANDIDOSE. 99
TABLEAU 34 : EFFET DE LA NIGELLE, SEULE OU ASSOCIEE AU PRAZIQUANTEL, SUR LA DISTRIBUTION DES VERS ET LA TAILLE DU GRANULOME CHEZ LA SOURIS INFECTEE PAR *SCHISTOSOMA MANSONI*. 103
TABLEAU 35 : ACTIVITE ABORTIVE DE L'EXTRAIT A L'HEXANE ET DE SES FRACTIONS CHEZ LA RATE. 105
TABLEAU 36 : RESUME DES ACTIVITES PHARMACOLOGIQUES. 108

TABLEAU 37 : DETERMINATION DES DL_{50} DES DIFFERENTS EXTRAITS DE NIGELLE EN INJECTION I.P. CHEZ LA SOURIS 111
TABLEAU 38 : DOSES ENTRAINANT UN DEFICIT NEUROLOGIQUE MINIMAL CHEZ 50% DES SOURIS (TD_{50}) 112
TABLEAU 39 : EFFET DES GRAINES ET DE L'HUILE DE NIGELLE SUR LA GLYCEMIE (MG/DL) CHEZ L'HOMME ET LA FEMME 120
TABLEAU 40 : EFFET DES GRAINES ET DE L'HUILE DE NIGELLE SUR LES LIPIDES SANGUINS CHEZ L'HOMME ET LA FEMME 121
TABLEAU 41 : EFFET DES GRAINES ET DE L'HUILE DE NIGELLE SUR LES CELLULES SANGUINES ET L'HEMOSTASE CHEZ L'HOMME ET LA FEMME 122
TABLEAU 42 : EFFET DES GRAINES ET DE L'HUILE DE NIGELLE SUR CERTAINES ENZYMES CHEZ L'HOMME ET LA FEMME 123
TABLEAU 43 : EFFET DES GRAINES ET DE L'HUILE DE NIGELLE SUR LE TAUX DE CREATININE SANGUINE (MG/DL) CHEZ L'HOMME. 124
TABLEAU 44 : EFFET DES GRAINES ET DE L'HUILE DE NIGELLE SUR LE TAUX DE PROLACTINE SANGUINE (NG/ML) CHEZ L'HOMME ET LA FEMME 124
TABLEAU 45 : EFFET DE L'HUILE DE NIGELLE SUR LES SYMPTOMES DE L'ALLERGIE..... 126
TABLEAU 46 : EFFET DE LA PRISE PAR V.O. DE GRAINES DE NIGELLE CONTRE LES CESTODES CHEZ LES ENFANTS. 128
TABLEAU 47 : RESUME DES EFFETS CLINIQUES DE LA NIGELLE. 129
TABLEAU 48 : COMPARAISON DE LA COMPOSITION DES GRAINES DE NIGELLE AVEC CELLE D'AUTRES GRAINES OLEAGINEUSES, CALCULEE SUR 1KG DE MATIERE SECHE. 136

Introduction

La Nigelle est une plante de grande notoriété, surtout à l'échelle du monde Arabe, où elle est souvent mentionnée comme étant une panacée. Sa renommée en tant que plante médicinale et condimentaire dans les pays allant du Proche au Moyen Orient remonte à plusieurs siècles.

On pense qu'elle a joué un rôle important dans les coutumes de l'Egypte ancienne puisqu'on a retrouvé des graines de Nigelle dans la tombe de Toutankhamon, pratique utilisée en général pour aider le roi dans l'au-delà.

La première référence à la Nigelle se trouve dans le livre d'Isaïe dans l'Ancien Testament où il est écrit que la sagesse du cultivateur sachant planter et battre ses semences (Nigelle, Cumin, Blé, Orge et Millet) selon l'exigence de l'espèce, est à l'image de la sagesse de Dieu dans la conduite de son peuple.

Au 1er siècle, Dioscoride, physicien Grec, cite les usages de la Nigelle : elle sert à soigner les maux de tête, la congestion nasale, les rages de dents et lutte contre les vers intestinaux. Elle était aussi utilisée comme diurétique et favorisait les menstruations et la montée de lait.

L'érudit musulman Al-Biruni (973-1048) rédigea un traité sur les premières origines des drogues indiennes et chinoises ; il parle de la Nigelle comme étant une sorte de céréale. Ceci fut confirmé par la suite par Suhar Bakht, d'où la probable utilisation culinaire de la Nigelle dès le Xème et XIème siècle.

Dans le système de médecine Greco Arabe ; les contemporains d'Hippocrate : Galien et Avicenne considèrent la Nigelle comme un remède précieux contre les désordres digestifs et hépatiques, et comme un bon stimulant général. Pour Avicenne (980-1037) les graines de Nigelle stimulent l'énergie du corps et aident à récupérer de la fatigue et du découragement.
La Nigelle est mentionnée dans cinq textes arabes anciens (marocains, maghrébins et andalous) du XIIème, XVI ème, XVII ème et XVIII ème siècle. **[106c]**

Dans son livre "Plantes médicinales de la Bible", le scientifique Jim Duke cite un proverbe du prophète Mohamed disant que "la Nigelle soigne tous les maux sauf la mort". **[106b]**

Depuis quelques années de nombreuses publications scientifiques paraissent régulièrement que ce soit pour étudier la composition des graines de Nigelle et de ses extraits, ou pour explorer le champ de ses possibilités thérapeutiques.
Les graines et l'huile qui en est extraite sont les deux parties de la plante les plus utilisées en médecine traditionnelle et les seules commercialisées en Europe (les graines l'étant pour un usage culinaire).
Mais nous verrons que les chercheurs se sont aussi beaucoup intéressés à l'activité de l'huile essentielle et de son constituant majoritaire, la thymoquinone.
Tous ces travaux nous permettrons de revisiter et de valider ou non les emplois traditionnels de la Nigelle dans telle ou telle pathologie.

Nous vous invitons, par ce travail, à découvrir cette épice méconnue dans nos régions. Par une étude botanique, chimique, pharmacologique et clinique, voici présentée ici une synthèse des données actuelles concernant cette plante et les perspectives de son usage médicinal.

Figure 1 : Nigella sativa L. plante entière [106e]

CHAPITRE 1

BOTANIQUE

1 La place dans la systématique

Le genre *Nigella* recouvre plusieurs espèces. Celle que nous allons étudier : *Nigella sativa* L. ne se trouve que très rarement en France où 4 autres espèces sont plus representées. Parmi celles-ci *Nigella damascena* L. est la plus courante ; elle est très souvent confondue avec *Nigella sativa*.

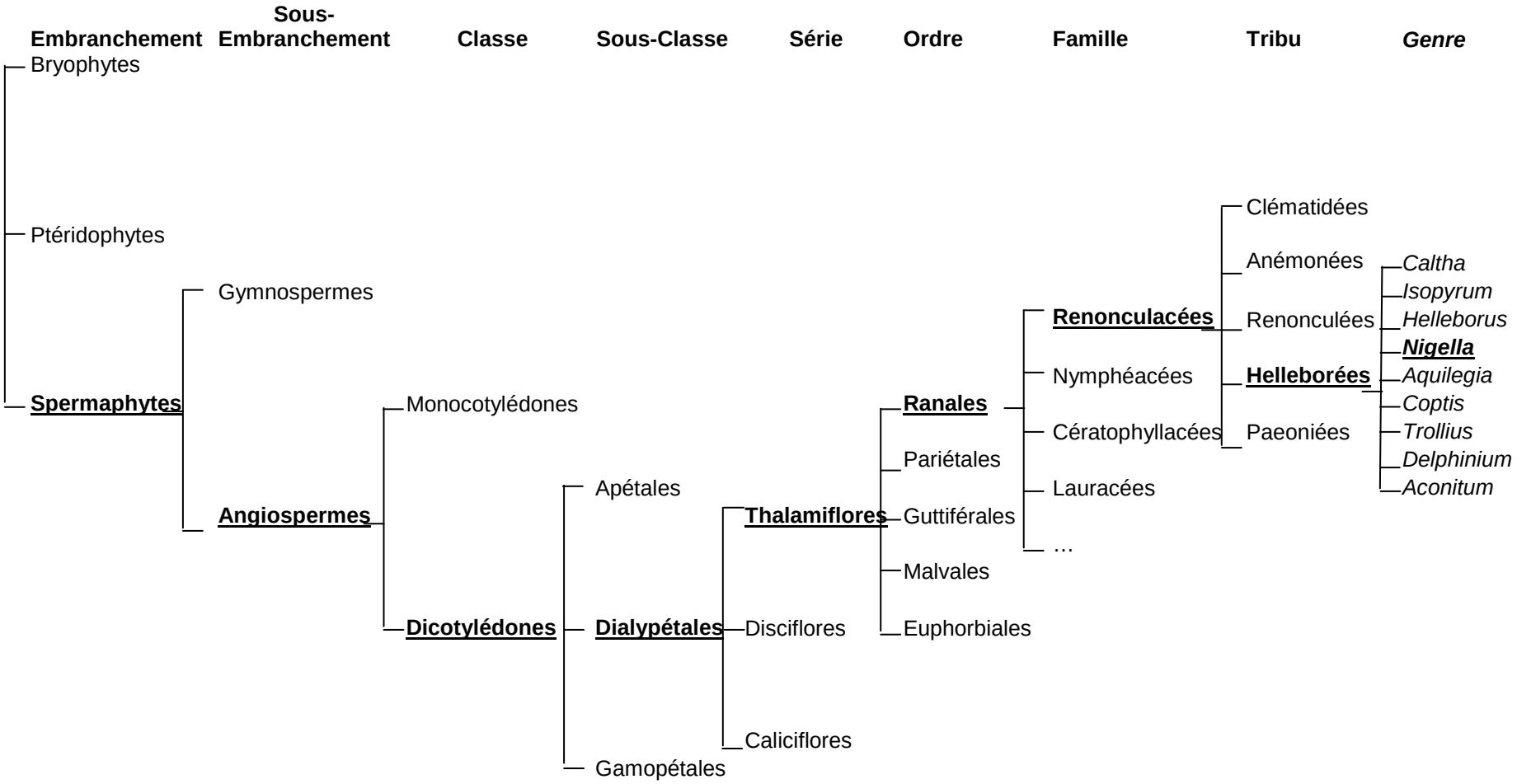
La systématique est un domaine toujours à l'étude et sujet à de nombreux débats entre botanistes.
Le système de classification botanique longtemps utilisé fut celui de Engler (1846-1930) qui a servi de base aux flores classiques françaises. L'auteur divise directement en ordres les 2 classes monocotylédones et dicotylédones.
Plus tard, Bentham et Hooker (1862-1883) définirent des taxons (reposant sur la séparation ou non des pétales entre eux) : apétales, dialypétales, gamopétales.
La classification de Hutchinson (1973) repose sur la subdivision des dicotylédones en 2 grands phylum : les plantes herbacées et les plantes ligneuses ; ceux ci étant ensuite chacun subdivisés en ordres. Dans ce système, le genre *Nigella* appartient au phylum des herbacées qui comporte 28 ordres dont celui des Ranales. Cette dichotomie en phylum herbacés et ligneux est discutable, bien que l'on reconnaisse une remarquable description et circonscription des taxons.
La notion d'évolution apparaît plus clairement dans les systèmes suivants ; notamment celui de Cronquist (1919-1992) qui comporte un arbre évolutif à 2 branches où la fleur de Magnolia serait considérée comme la fleur primitive : Magnoliopsida et Liliopsida (établi auparavant par Takhtajan). Les deux branches sont elles-même divisées en sous-classes. Même si ce système est logique et didactique, Cronquist lui-même reconnaît l'arbitraire de certains de ses regroupements.
L'évolution actuelle des systèmes de classification s'appuie sur la phylogénétique moléculaire qui est basée sur la reconnaissance de caractères primitifs et la recherche de ses dérivés.
Chaque auteur d'une classification botanique a sélectionné des caractères qu'il considérait important pour délimiter des taxons. Il existe donc plusieurs systèmes selon le poids respectif donné par chacun aux différents caractères. Tous les systèmes comportent de nombreuses convergences et ne peuvent être considérés comme contradictoires. **[110] [144] [159]**
La classification botanique utilisée ici provient du système établi par Bentham et Hooker qui, bien qu'il ne tienne pas encore suffisamment compte de l'évolution, reste, à l'heure actuelle un système beaucoup utilisé et enseigné.
La place du genre *Nigella* dans la systématique est précisée dans le schéma de la ***figure 2***.

1.1 Ordre des Ranales [48] [57] [61] [87] [158]

Ranale provient du grec *rana* : grenouille.
Cet ordre comporte le type le plus archaïque des fleurs d'Angiosperme avec un habitat aquatique pour les moins évoluées d'où l'origine de son nom.
Il est caractérisé par des carpelles toujours indépendants et des fleurs souvent en partie spiralées.
L'évolution est marquée dans cet ordre par le passage des formes acycliques (spirales) aux formes cycliques par réduction du gynécée à quelques, voire à un seul carpelle(s).

Plusieurs familles composent cet ordre :
- Famille des Renonculacées (dont *Nigella sativa*)
- Famille des Nymphéacées
- Famille des Cératophyllacées
- Famille des Lauracées :
    - Groupe des Magnoliales : composé des familles : Magnoliacées, Anonacées, Calycanthacées, Monimiacées, Myristicacées
    - Groupe des Berbéridales : composé des familles : Ménispermacées et Berbéridacées.

Figure 2 : Classification botanique selon Bentham et Hooker [144] [159]



1.2 Famille des Renonculacées

1.2.1 Généralités [57] [61] [90] [159]

C'est l'une des grandes familles des Angiospermes avec 40 à 50 genres et 1500 à 2000 espèces.
Elle est cosmopolite mais plus particulièrement présente dans les régions tempérées et froides de l'hémisphère nord.
Les Renonculacées sont le type même de la famille par enchaînement ; c'est à dire comportant des espèces d'aspect très variable (herbes, arbrisseaux, arbustes) ; les espèces primitives différant fortement des espèces de type évolué avec de nombreux intermédiaires les reliant entre elles.
Le seul véritable caractère commun à tous les genres est l'embryon, toujours de petite taille et entouré d'un albumen charnu.
Beaucoup d'espèces sont toxiques.

1.2.2 Classification [57] [61]

Bentham et Hooker ont envisagé une division en deux groupes selon la structure du gynécée :

- Tribu des **Clématidées, Anémonées, Renonculées** *:*
  Les étamines et les carpelles sont nombreux et disposés en spirale ; les carpelles sont uniovulés ou pluriovulés.
  Le fruit est sec et indéhiscent : akène.
- Tribu des **Helleborées** et des **Paeoniées** :
  Les carpelles sont peu nombreux, uniovulés et disposés en verticille.
  Le fruit est un follicule en général (exceptionnellement une capsule ou une baie).

1.2.3 Tribu des Hélléborées [61] [158]

C'est la tribu la plus importante en nombre d'espèces.
Les plantes sont des herbacées annuelles ou vivaces, à feuilles souvent très divisées.
Les fleurs sont actinomorphes (régulières) ou zygomorphes (irrégulières), à périanthe simple.
Les sépales sont en insertion spiralée.
Certaines étamines se transforment en nectaires de formes variables.
1 à 5 carpelles en verticille, pluriovulés.
Elle comporte les genres *Caltha, Isopyrum, Helleborus, Nigella, Aquilegia, Coptis, Trollius, Delphinium* et *Aconitum.*

1.2.4 Genre *Nigella*

Nigella vient de *nigellus* : noirâtre (couleur des graines de Nigelle).
Ce genre comporte 25 espèces réparties en Europe, en Asie occidentale et en Afrique du Nord.

- **L'appareil végétatif [42] [56] [158] [165]**
  Ce sont des plantes annuelles, herbacées, à tige ordinairement rameuse.
  Les feuilles sont divisées en lanières étroites et linéaires.
  Le système racinaire est une racine principale allongée et persistante.
- **La fleur [42] [56] [132] [145]**
  La fleur est actinomorphe.
  - Le calice
    Il est régulier, à 5 sépales pétaloïdes (colorés), bleu clair, ou bleu mêlé de vert, rarement blanc.
  - La corolle
    5 à 8 pétales beaucoup plus petits que les sépales. Ils sont tubuleux à la base, à deux lèvres ; la lèvre inférieure est divisée en deux.
  - Les étamines
    Elles sont toujours nombreuses, libres, centripètes (anthères tournées vers l'extérieur de la fleur), insérées en spirales directement sur le réceptacle floral.
    Les anthères sont à déhiscence longitudinale.

- Le gynécée
  Il est formé de 3 à 10 carpelles plus ou moins soudés entre eux par leurs cotés internes.
  Chaque carpelle se prolonge en un style étroit et persistant, au moins aussi long que la moitié du reste du carpelle.
  L'ovaire est supère.

- **Le fruit [42] [56]**
  C'est une capsule ou un follicule selon la soudure totale ou partielle des carpelles.
  Chaque follicule se termine par une longue pointe plus ou moins recourbée.

- **La graine [42] [56]**
  Les graines sont noires ou noirâtres, à trois angles et sont disposées sur deux rangées dans le fruit.

1.3 Les différentes espèces

1.3.1 En France

5 espèces du genre *Nigella* peuvent être présentes dans nos régions :

a) *Nigella damascena* L.: [56] [90] [158] [165] (*figure 3*)

Espèce la plus répandue en France (dans les jardins et les champs, elle ne s'élève pas en montagne) car fréquemment cultivée pour l'ornement. Elle fleurit en juin-juillet.
Cette très jolie fleur se distingue des 4 autres espèces par son involucre à longues lanières enchevêtrées disposé immédiatement sous la fleur. Son fruit est une capsule renflée très ornementale, rentrant souvent dans la composition de bouquets secs.
Sa localisation :

- En France : dans le midi, dans l'ouest (sauf en Bretagne) et dans le sud-ouest.
- En Europe : en Suisse, en Belgique et en région méditerranéenne.
- Hors Europe : dans le nord de l'Afrique, dans les îles de Madère et des Canaries.

b) *Nigella arvensis* L.: [56] [86] [91] [165] (*figure 4*)

Plante à rameaux écartés, à grande fleur isolée sans involucre, de couleur bleu clair strié de vert. Elle fleurit en juin-juillet.
Sa localisation :

- En France : plante assez commune, présente principalement sur les sols calcaires, elle est cependant rare dans l'ouest et le centre. Elle ne s'élève pas en montagne.
- En Europe : Europe centrale et méridionale.
- Hors Europe : Asie occidentale, Nord de l'Afrique.

Il existe quelques sous espèces : *ssp arvensis* (ci dessus), et deux autres retrouvées en Grèce : *ssp aristata* et *ssp rechingeri*.

c) *Nigella hispanica* L.: [84] [90] [145] [165] (*figure 5*)

Plante à feuilles très divisées et à fleur bleue très grande et non involucrée.
Sa localisation :

- En France : midi et sud-ouest.
- En Europe : Espagne et Portugal.
- Hors Europe : Afrique du Nord (Maroc, Algérie).

d) *Nigella gallica* Jord. : [56] [84]

Elle est proche de l'espèce *hispanica* mais les feuilles sont moins divisées et les fleurs sont plus petites et de couleur bleu pâle.
Sa localisation :

- En France : midi et sud-ouest.
- En Europe : Espagne septentrionale et centrale.

e) *Nigella sativa* L. : [42] [91] (*figure 3*)

Nous allons l'étudier en détail plus loin.
Elle est rare en France, on peut la trouver accidentellement dans les champs du midi ; en Europe c'est une espèce rare également, elle y a été introduite. On la retrouve surtout hors de l'Europe.

Figure 3 : Différentes espèces de Nigelle : Nigella damascena, Nigella sativa [42]

Figure 4 : Nigella arvensis [42]

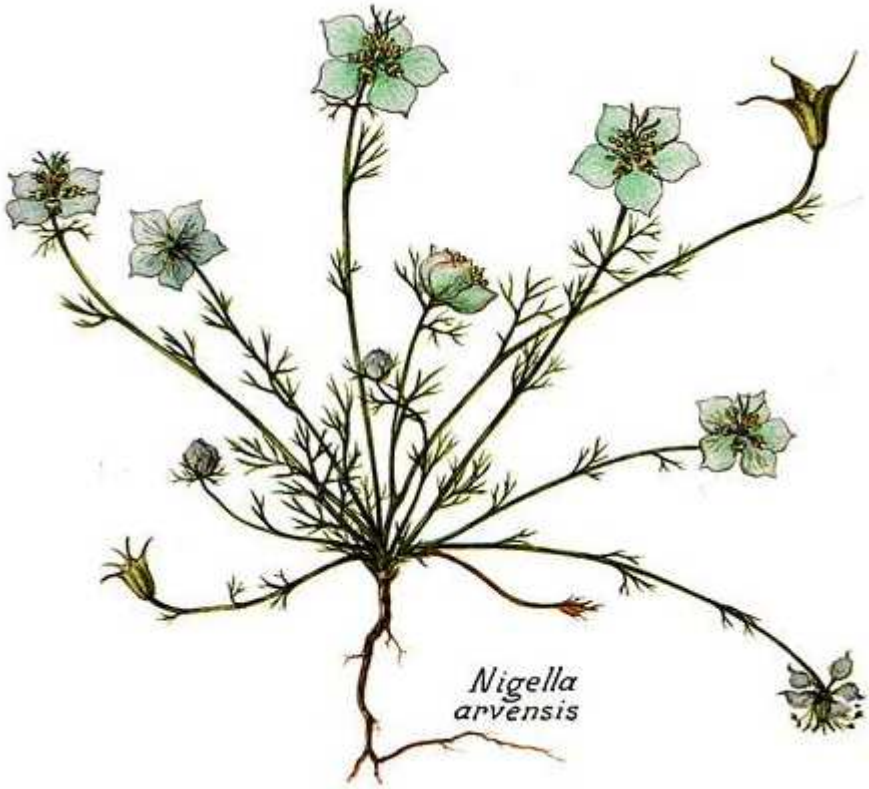


Figure 5 : Nigella hispanica [42]

1.3.2 Autres espèces hors de France [41] [84] [165]

Nigella orientalis L. : sud-ouest de l'Asie

Nigella cretica Miller. : Crète

Nigella degenii Vierth. : Iles Cyclades, Carpates, Crète et Grèce

Nigella segetalis Bieb. : sud de l'Ukraine et Russie

Nigella fumariifolia Kotschy. : Carpates, Crète et Chypre

Nigella elata Boiss. : Asie mineure et Chypre

Nigella arvensis ss esp *aristata* Sibth. : Grèce et Iles Cyclades

ss esp *rechingeri* Tutin. : est de la Grèce

ss esp *arvensis* L. : sud de l'Europe, Nord Afrique et Asie occidentale

Nigella doerfleri Vierth. : Crète

Nigella nigellastrum : toute la méditerranée sauf le Nord de l'Afrique

Nigella ciliaris : Chypre et Palestine.

1.4 *Nigella sativa* L.

1.4.1 Description (*figure 6*)

- **Parties aériennes [40] [42] [86]**
  C'est une plante annuelle, herbacée, ne dépassant pas 50 cm de hauteur.
  La tige est dressée, rameuse, côtelée et anguleuse.
  Les feuilles sont divisées en lobes étroits, allongés, souvent un peu élargis à leur sommet. Elles sont multifides : les feuilles inférieures sont pétiolées et les supérieures sessiles.

- **La fleur [40] [42] [84] [86]**
  La floraison a lieu d'avril à juin.
  Les fleurs sont assez petites, de 2 à 2,5 cm de diamètre.
  Il n'y a pas d'involucre sous la fleur.

  - Le calice
    5 sépales blancs à pointe verdâtre ou bleuâtre. Ils sont de forme ovale, rétrécis à la base ; et portent quelques poils épars sur le dos.

  - La corolle
    Elle est bleu clair mêlée de vert.
    5 à 8 pétales, plus petits que les sépales et très peu pubescents.
    Les pétales sont en forme de cornet à deux lèvres portant chacun au sommet deux petits renflements arrondis, non amincis à la base, et ont un onglet nectarifère.

  - Les étamines
    Elles font 1,5 cm de long, sont de couleur jaune et sont sans pointe à leur sommet (mutiques).

  - Le gynécée
    Il est composé de 3 à 6 carpelles lisses, soudés entre eux jusqu'à la base des styles persistants.

- **Le fruit [42] [86]**
  Ce sont des follicules soudés, s'ouvrant au sommet par une fente interne.
  La surface du fruit mûr est ridée en travers sur le milieu de chaque carpelle.

- **La graine [40] [42] [86]**
  Les graines sont noires, nombreuses et granuleuses, de 1,5 à 2 mm de longueur et sont disposées sur deux rangs.
  Leur forme est pyramidale, à faces triangulaires sensiblement planes, marquées de rides transversales et finement chagrinées.
  Les amandes sont blanches et huileuses.
  Au broyage elles dégagent une odeur fortement aromatique, tenant du poivre et de l'anis et aussi de la noix de muscade. **[166]**

1.4.2 Autres appellations [106a] [106d]

Les appellations de *Nigella sativa* dans les différentes langues sont les suivants :

- Français : Cheveux de Vénus, Nigelle, Poivrette, Cumin noir
- Anglais : Love-in-a-mist, Fennel flower, Onion seed, Black Cumin, Black Caraway, Black seed
- Allemand : Zwiebelsame, Nigella, Schwarzkümmel
- Grec : Melanthion
- Italien : Nigella, Grano nero
- Espagnol : Niguilla, Pasionara
- Norvégien : Svartkarve
- Suédois : Svartkummin
- Hébreux : Katzah, Qetsach, Qetsah
- Turque : Corekotu siyah
- Arabe : Sinouj, Sanouz, Shunez, Habbah sauda, Habbet el beraka, Kamun aswad
- Hindi : Kalounji, Munga reala

Figure 6 : Fleur de Nigella sativa L. [106e]

2 Culture

2.1 Répartition [158]

Nigella sativa est une plante cultivée très largement en dehors de l'Europe : en Russie, Turquie, Egypte, Arabie saoudite, Ethiopie, Afrique du nord, Syrie, dans les Balkans, en Moyen et Extrême Orient, Inde, Bangladesh, au Sri Lanka. Le principal pays producteur est l'Egypte. **[166]**
En France elle peut être exceptionnellement présente dans la région méditerranéenne.

2.2 Conditions de culture [52] [54] [152]

Les semis doivent se faire en place car la Nigelle n'aime pas être déplacée. Il faut semer en lignes espacées de 30 cm, en plein soleil, dans un sol riche et bien drainé. La germination se fait en 10 à 15 jours.

Dans nos régions, la Nigelle fleurira en Juin-Juillet. Les graines pourront être récoltées en Août. En laissant monter en graines quelques fleurs, de nouveaux plants apparaissent pendant des années. Il faut néanmoins veiller à supprimer les fleurs fanées au fur et à mesure pour prolonger l'épanouissement.
On peut multiplier la plante par semis en automne ou au printemps.

2.3 Rendement de production de graines de *Nigella sativa* [58]

Cette étude conduite en Italie montre l'influence de la plantation à trois dates différentes de *Nigella sativa* et ses répercussions sur la production des graines (rendement, quantité, poids, densité, germinabilité) et sur leur contenu en huile essentielle.
Ces dates étaient, pour *Nigella sativa* : le 3 mars, le 9 avril et le 7 mai ; les récoltes eurent lieu, respectivement : le 19 juillet, le 25 juillet et le 1er août.

L'étude montre que le cycle de croissance est court mais qu'en général, une plantation plus précoce engendrera une plus grande production de graines par plante d'où un rendement plus important.
Néanmoins, la courte phase végétative reste un facteur limitant quant à la quantité de graines produites et des études plus approfondies seraient nécessaires pour augmenter le pouvoir de germination et accroître le cycle végétatif.

3 La drogue

Ce sont uniquement les graines de *Nigella sativa* qui sont utilisées.

3.1 Caractéristiques [166]

3.1.1 Odeur

La graine broyée dégage une forte odeur aromatique qui rappelle l'anis, la noix de muscade et le poivre **[166]** ; d'autres auteurs évoquent l'odeur du citron et du sassafras **[40].**

Nous verrons plus loin, dans l'étude de l'huile essentielle contenue dans ces graines de Nigelle que la composition chimique de celle-ci peut varier sensiblement selon les facteurs environnementaux et donc influer nettement sur l'odeur dégagée au broyage de la drogue.

3.1.2. Saveur

Elle est en premier lieu légèrement amère, puis épicée et un peu âcre.

3.1.3. Identification (*figure 7*)

L'identification microscopique paraît inutile car les graines ont une forme caractéristique (graines ovoïdes, de 2 mm de long, de couleur noir mat, de forme pyramidale avec 3 ou 4 angles et une face supérieure finement granuleuse et réticulée) et des caractères organoleptiques marqués.
Le tégument de la graine est formé de trois tuniques :

- Externe : formée de cellules coniques papilliformes, à parois brunes et épaisses.
- Moyenne : formée de cellules aplaties, allongées tangentiellement.
- Interne : formée d'une rangée de petites cellules cubiques.

L'albumen est riche en huile et en aleurone.

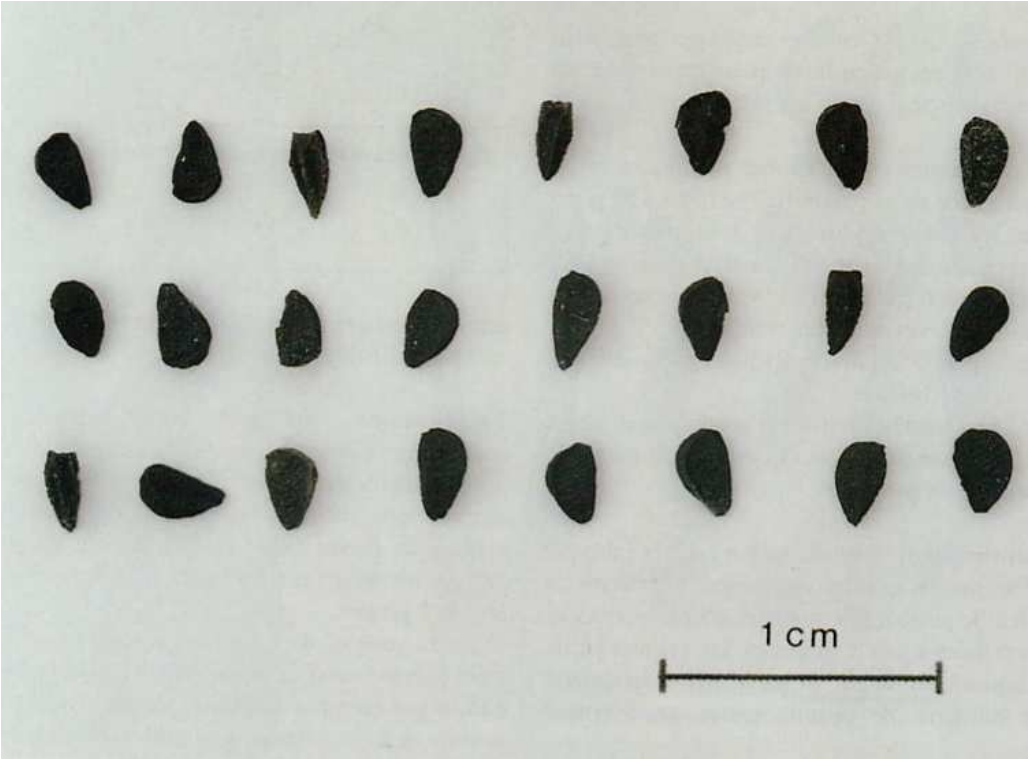
3.2. Inscription aux différentes pharmacopées

En Europe, les graines de Nigelle ont été inscrites à différentes pharmacopées **[105]** :

- A la 1ère édition de la pharmacopée danoise.
- A la 2ème et la 4ème édition de la pharmacopée espagnole
- A la 1ère et la 5ème édition de la pharmacopée suédoise
- A la 1ère et la 3ème édition de la pharmacopée française.

Nigella sativa n'est pas inscrite à la pharmacopée européenne actuelle, ni aux Cahiers de l'Agence n°3. **[166]**

Figure 7 : Graines de Nigella sativa. *[166]*



CHAPITRE 2

CHIMIE

1 Composition générale

Cette analyse a été réalisée sur des graines de Nigelle de Turquie en 1993 **[140].**
Le ***tableau 1*** résume ces valeurs.

Tableau 1 *: Composition générale des graines de Nigella sativa.* ***[140]***

Composition	Teneur en %
Eau	6,4
Cendres	4,0
Lipides	32,0
Protéines	20,2
Fibres	6,6
Glucides	37,4

La composition générale des graines de *Nigella sativa* montre une teneur relativement importante en glucides (37,4%), en lipides avec 32% et en protéines avec 20%.
Les graines de *Nigella sativa* étant très utilisées dans l'alimentation, ces données permettent déjà de les qualifier comme ayant une bonne valeur nutritive.

1.1 Minéraux

L'analyse minérale a été réalisée par spectrophotométrie par absorption atomique sur des graines de Nigelle provenant de 4 pays différents : Inde (1 échantillon), Syrie (2 échantillons), Turquie (1 échantillon) et Jordanie (1 échantillon). Les valeurs obtenues pour chaque échantillon ne montraient que peu de variations et le ***tableau 2*** donne une moyenne. (**[161]** 1998)

Tableau 2 *: Composition minérale des graines de Nigella sativa.* ***[161]***

Composition	Teneur en mg/100g
Potassium	527,70 ± 47,70
Phosphore	526,50 ± 30,16
Sodium	49,60 ± 6,13
Fer	10,50 ± 1,56
Zinc	6,04 ± 0,38
Calcium	185,90 ± 18,27
Cuivre	1,84 ± 0,34

Comme nous le verrons dans le chapitre sur les valeurs nutritionnelles, la graine de Nigelle présente une teneur intéressante en fer, zinc et phosphore.
Il est dommage que la teneur en magnésium n'ait pas été évaluée.

Une autre étude confirme l'absence de métaux lourds (cadmium, plomb et arsenic). **[14]**

1.2 Vitamines

En 1998 en Jordanie **[161]**, l'étude de la teneur en vitamines à été menée sur 5 échantillons de graines de *Nigella sativa* provenant de 4 pays différents répartis comme suit :

- 1 échantillon d'Inde
- 2 échantillons de Syrie
- 1 échantillon de Turquie
- 1 échantillon de Jordanie

L'analyse a été réalisée par chromatographie liquide à haute performance (CLHP), d'après la méthode AOAC 1984 (Association of Official Analytical Chemists).
Le ***tableau 3*** donne la valeur moyenne des 5 échantillons.

Tableau 3 *: Teneur en vitamines et valeurs nutritionnelles des graines de Nigella sativa**. [161]***

Vitamines	Teneur moyenne en mg/100g	AQR[a] en mg	% d'AQR[b]
Thiamine (B1)	1,500	1,5	100,0
Riboflavine (B2)	0,100	1,7	5,9
Pyridoxine (B6)	0,500	2,0	25,0
Niacine (B3)	5,700	20,0	28,5
Acide folique (B9)	0,061	0,4	15,3

[a] AQR : Apports Quotidiens Recommandés aux Etats-Unis.
[b] % d'AQR : Pourcentage d'Apports Quotidiens Recommandés (aux Etats-Unis).

Les teneurs en vitamines B sont intéressantes, notamment celle en vitamine B_1 avec 100% des AQR ; en vitamine B_3 avec 28,5% des AQR ; et en vitamine B_6 avec 25% des AQR.

1.3 Protéines

Les graines de *Nigella sativa* contiennent environ 20% de protéines. **[140]**
L'analyse de la composition en acides aminés (AA) à été réalisée par Saleh Al-Jassir sur des graines de Nigelle d'Arabie en 1992 **[14].**
Les protéines ont été hydrolysées par de l'acide chlorhydrique puis analysées par un automate analyseur d'AA.
Le ***tableau 4*** montre la composition en acides aminés essentiels (AAE) et non essentiels (AANE).

Tableau 4 *: Répartition en acides aminés des protéines de graines de Nigella sativa.* ***[14]***

ACIDES AMINES **Acides aminés essentiels**	**Teneur en mg /100g de protéines**	**% de contribution à l'apport protéique**
leucine	665,00 ± 3,51	5,82
valine	527,00 ± 3,28	4,61
lysine	462,00 ± 4,28	4,04
thréonine	417,00 ± 3,31	3,65
phénylalanine	413,00 ± 2,67	3,61
isoleucine	395,00 ± 2,11	3,46
histidine	383,00 ± 1,64	3,35
méthionine	188,00 ± 0,37	1,65
total AAE	**3450**	**30,19**
Acides aminés non essentiels		
acide glutamique	2829,00 ± 19,34	24,74
arginine	1051,00 ± 10,39	9,19
acide aspartique	1022,00 ± 9,80	8,94
glycine	642,00 ± 4,42	5,61
proline	560,00 ± 3,91	4,90
sérine	493,00 ± 4,11	4,31
alanine	427,00 ± 3,35	3,73
tyrosine	411,00 ± 2,95	3,59
ammonium	325,00 ± 2,21	2,84
cystine	224,00 ± 1,82	1,96
total AANE	**7984**	**69,81**
Acides aminés totaux	**11434**	**100**
rapport AAE/AANE	0,43	

Les protéines de la graine de Nigelle sont composées de 17 AA dont 8 sont des AAE.
L'AA majeur est l'acide glutamique, suivi par l'arginine, l'acide aspartique, la leucine et la glycine. Ces constituants majeurs représentent plus de 54% des AA totaux.
La cystine et la méthionine sont les plus mineurs.
Le tryptophane, autre AAE, n'a pas été mis en évidence.

En 1978, à Indianapolis, l'étude de Babayan et *al.* **[28]** sur l'analyse de la composition en AA de graines de Nigelle importées du Moyen Orient (localisation exacte non définie) révèle des résultats légèrement différents. Les protéines ont été hydrolysées par l'acide chlorhydrique puis les acides aminés ont été identifiés par chromatographie gaz-liquide.
L'AA majeur est ici l'arginine, suivi par l'acide glutamique et la leucine.
Ces différences sont certainement dues à des variations génotypiques et environnementales.

2 L'huile

2.1 Généralités et méthodes d'analyse [50] [96]

Dans certains cas l'huile est dite huile fixe ou huile grasse.
Parmi les lipides on distingue :

- Les lipides simples : acides gras et esters d'acides gras et d'un alcool (monoacylglycérols, diacylglycérols et triacylglycérols)
- Les lipides complexes : phospholipides et glycolipides (qui sont aussi des lipides polaires).

L'extraction de l'huile se fait après broyage des graines par pression ou à l'aide d'un solvant organique.
Dans les études suivantes, l'extraction se fait au Sohxlet d'après la méthode décrite par AOAC 1990. Deux solvants sont utilisés : le *n*-hexane et un mélange chloroforme/méthanol (2 : 1 en volume).
Les différentes fractions de lipides peuvent être séparées par chromatographie sur couche mince ou par chromatographie sur colonne.
Pour la détermination de la composition en acides gras, il est nécessaire de réaliser une réaction de saponification et de méthylation pour obtenir les esters d'acides gras ; en fait on réalise une méthanolyse alcaline. Ensuite, leur analyse est faite par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur par ionisation de flamme.
L'analyse des mono, di et triacylglycérols est réalisée par CLHP ou par chromatographie gaz-liquide toutes deux couplées à un détecteur par ionisation de flamme.

2.2 Caractéristiques physico-chimiques de l'huile [38] [50] [96]

Les caractéristiques physico-chimiques ont été déterminées d'après la méthode AOAC sur des graines de *Nigella sativa* égyptiennes en 2003. L'huile a été extraite des graines broyées par éther de pétrole à l'aide d'un Soxhlet.

L'huile obtenue par pression à froid est de couleur jaune doré, alors que celle extraite par solvant est jaune brunâtre ; ceci serait dû à la capacité du solvant à extraire les pigments liposolubles et les oléorésines présentes dans les graines de Nigelle. **[38]**
Le ***tableau 5*** résume les caractéristiques.

Tableau 5 *: Propriétés physiques et chimiques de l'huile de graines de Nigella sativa.* ***[38]***

indice de réfraction (à 20°C)	1,4721	±	0,0002
point de fusion (en°C)	– 3,3	±	0,6
densité relative (g/cm^3)	0,921	±	0,0002
indice d'iode (g d'iode/100g d'huile)	128	±	21
indice de saponification (en mg de KOH/g d'huile)	203	±	3
% de matière insaponifiable	1,8	±	0,3
indice de péroxydation (méq O2/kg d'huile)	10,7	±	0,4

L'indice d'iode est la masse d'iode moléculaire (en g) nécessaire pour saturer les doubles liaisons de 100g de lipides ; il est donc un reflet de l'insaturation des chaînes d'acide gras. Il donne aussi des indications sur l'instabilité de l'huile par péroxydation des doubles liaisons.

L'indice de saponification est la masse d'hydroxyde de potassium (en mg) nécessaire pour saponifier les acides gras (neutraliser les acides gras libres) contenus dans 1g de lipides selon la réaction suivante :

$$RCOOH + KOH \rightarrow RCOO^{-} + K^{+} + H_2O$$

Le pourcentage de matière insaponifiable est de 1,8%. La réaction de saponification permet de séparer la fraction insaponifiable qui contient : caroténoïdes, stérols, tocophérols, alcools terpéniques et hydrocarbures.

L'indice de péroxydation exprime en milli-équivalents d'oxygène actif, la quantité de péroxyde contenue dans 1kg de substance. Il donne une idée de la stabilité de l'huile étudiée.

2.3 Composition générale [38]

L'étude a été réalisée en 2003 en Egypte.
Les graines de *Nigella sativa* ont été nettoyées, broyées et divisées en deux portions. L'une a été soumise à une presse hydraulique pour obtenir une huile par pression à froid ; et l'autre a été extraite par de l'éther de pétrole dans un Soxhlet pour obtenir l'huile selon la méthode décrite par AOAC (1990).Le pourcentage d'acides gras libres a été déterminé selon la même méthode. L'huile a été fractionnée par chromatographie sur colonne de silice puis les fractions lipidiques ont été identifiées par comparaison de leur temps de rétention avec celui des produits standard. La chromatographie sur couche mince a permis alors de calculer le pourcentage de chaque fraction lipidique.

Le ***tableau 6*** indique le pourcentage de chaque fraction lipidique de l'huile de graines de Nigelle obtenue par les deux méthodes.

Tableau 6 *: Pourcentage des différentes classes de lipides de l'huile des graines de Nigella sativa suivant la méthode d'extraction.* ***[38]***

classe de lipides	méthode par pression à froid	méthode d'extraction par solvant
lipides polaires[a]	3,7 ± 0,2	4,8 ± 0,8
monoacylglycérols	4,8 ± 0,7	5,7 ± 0,5
diacylglycérols	5,1 ± 0,7	4,1 ± 0,8
stérols libres	3,0 ± 0,8	5 ± 0,6
inconnu	5,4 ± 0,5	4,5 ± 0,3
acides gras libres	14,2 ± 0,5	8,3 ± 0,2
triacylglycérols	57,5 ± 2,0	63,2 ± 2,2
esters de stérols[b]	2,5 ± 0,4	4,4 ± 0,4

[a] lipides polaires : phospholipides et glycolipides.
[b] esters de stérols, hydrocarbones et pigments.

Les triacylglycérols (TAG) représentent la fraction la plus importante des lipides (57,5% et 63,2% pour l'une et l'autre méthode), viennent ensuite les acides gras libres (14,2% et 8,3%) ; puis les diacylglycérols (DAG) pour l'huile obtenue par pression à froid (5,1%) et les monoacylglycérols (MAG) pour l'huile extraite par solvant (5,7%).
Le pourcentage supérieur d'acides gras libres dans l'huile obtenue par pression à froid serait dû à l'action hydrolytique de la lipase présente dans les graines de Nigelle broyées. Cette activité serait annulée par le contact de l'huile avec le solvant durant l'extraction.

2.4 Acides gras libres [14]

Ce sont des acides carboxyliques aliphatiques de longueur variable.
Les acides gras (AG) se répartissent en deux groupes : les AG saturés et les AG insaturés (mono ou polyinsaturés selon que la chaîne carbonée comporte une ou plusieurs doubles liaisons).

La composition en acides gras libres a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse sur des graines de Nigelle d'Arabie en 1992 (confère ***tableau 7***).

Dix acides gras libres ont été mis en évidence, avec 83,7% d'acides gras insaturés (AGI) et 16,3% d'acides gras saturés (AGS). Ceci est conforme aux résultats obtenus en 1978 par Babayan et *al.* **[28]**
Parmi les AGI, le prédominant est l'acide linoléique, il représente plus de 54% des AG totaux. Puis vient l'acide oléique (23,58%).
Les deux AGS majeurs sont l'acide palmitique (11,90%) et l'acide stéarique (2,28%).

Quatre des AG trouvés dans cette étude n'avaient pas été détectés dans celle de Babayan en 1978 **[28]** ; ni dans celle de Zeitoun et Neff **[172]** réalisée en 1995 ; ce sont les acides myristoléique, palmitoléique, arachidonique et lignocérique.
Les résultats obtenus pour les six autres AG sont en accord avec ces deux travaux cités.
Par contre, ces deux travaux révélaient la présence d'acide éicosadiénoïque non détecté ici.

Tableau 7 *: Composition en acides gras des graines de Nigella sativa d'Arabie.* ***[14]***

ACIDES GRAS		POURCENTAGE
acide myristique	C 14:0	0,90 ± 0,08
acide myristoléique	C 14:1	0,18 ± 0,03
acide palmitique	C 16:0	11,90 ± 0,18
acide palmitoléique	C 16:1	0,30 ± 0,01
acide stéarique	C 18:0	2,28 ± 0,11
acide oléique	C 18:1	23,58 ± 1,03
acide linoléique	C 18:2	59,34 ± 1,96
acide arachidonique	C 20:0	0,14 ± 0,02
acide linolénique	C 18:3	0,30 ± 0,12
acide éicosadiénoïque	C 20:2	—
acide lignocérique	C 24:0	1,080 ± 0,012
acides gras saturés		**16,30**
acides gras insaturés		**83,70**

Une autre analyse faite en Egypte par Bassim Atta en 2003 **[38]** montre des résultats légèrement différents. (confère ***tableau 8***)
L'huile a été extraite par 2 méthodes : pression à froid et solvant (éther de pétrole) ; les AG ont été déterminés par chromatographie en phase gazeuse.
Cette étude met en évidence deux autres AG : l'acide béhénique (C 22 :0) : 0,8% et 0,9% ; et l'acide érucique (C 22 :1) : 0,7% et 1%. Les trois AG majoritaires sont toujours l'acide linoléique (47,5%et 49%), l'acide oléique (18,9% et 20,1%) puis l'acide palmitique (12,1% et 9.9%). Ensuite, contrairement à précédemment, c'est l'acide myristique qui arrive en 4ème position (avec 11,1% et 9,8%).

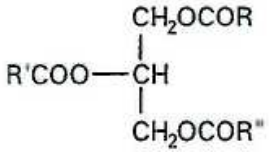
Tableau 8 *: Composition en acides gras (en pourcentage) de l'huile de graines de Nigella sativa d'Egypte.* ***[38]***

ACIDES GRAS		extraction par pression à froid	extraction par solvant
acide myristique	C 14:0	11,1 ± 1,1	9,8 ± 2,1
acide myristoléique	C 14:1	traces	traces
acide palmitique	C 16:0	12,1 ± 3,4	9,9 ± 3,3
acide palmitoléique	C 16:1	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,5
acide stéarique	C 18:0	3,7 ± 1,7	3,3 ± 1,2
acide oléique	C 18:1	18,9 ± 5,4	20,1 ± 6,1
acide linoléique	C 18:2	47,5 ± 6,5	49,0 ± 5,7
acide linolénique	C 18:3	2,1 ± 0,4	2,7 ± 1,1
acide arachidonique	C 20:0	1,2 ± 0,8	0,7 ± 0,4
acide béhénique	C 22:2	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,2
acide érucique	C 22:1	0,7 ± 0,4	1,0 ± 0,1
acide lignocérique	C 24:0	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1
acides gras saturés		**29,2**	**24,8**
acides gras insaturés		**69,7**	**73,5**

Toutes ces observations soulignent le fait que les compositions chimiques varient largement en fonction des provenances géographiques des échantillons et des méthodes d'analyses utilisées ; néanmoins, dans tous ces travaux on retrouve les trois même AG majeurs : l'acide linoléique, l'acide oléique et l'acide palmitique.

2.5 Les triacylglycérols [147] [172]

Ils représentent la classe de lipides majoritaire dans l'huile de Nigelle.
Ce sont des triesters d'un alcool, le glycérol et d'acides gras de formule générale :



R, R' et R" sont les chaînes hydrocarbonées des différents AG.
Un triacylglycérol (TAG) peut être homogène ou hétérogène selon que les molécules d'acides gras qui estérifient les trois fonctions alcool du glycérol sont identiques ou différentes.

L'étude réalisée en 1995 **[172]** porte sur la composition en TAG de graines en provenance d'Egypte ; l'huile a été obtenue par pression à froid. L'isolement de la fraction triglycéridique a été réalisé par un procédé chromatographique d'extraction en phase solide. La détermination des TAG et de leurs acides gras a été obtenue par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse et chromatographie en phase gazeuse, respectivement toutes deux couplées à une détection par ionisation de flamme. (***tableau 9***)

Tableau 9 *: Etude des triacylglycérols de l'huile de graines de Nigella sativa.* ***[172]***

triacylglycérols[A]	pourcentage
LNLL	0,5
LLL	24,6
LLO	19,6
LLP	17,5
LOO	9,6
LLS	2,5
LOP	12,9
PLP	2,5
OOO	1,6
LOS	2,4
PCO	2,4
SLP	0,5
POP	0,6
PPP	0,1
SOO	0,5
SOP	0,5
non identifié	1,7

[A] P = acide palmitique ;
S = acide stéarique ;
O = acide oléique ;
L = acide linoléique ;
LN = acide linolénique.

Cinq TG majeurs ont été mis en évidence, parmi ceux-ci le majoritaire est le trilinoleate de glycéryl (24,6%) ; puis l'oléate, dilinoléate de glycéryl (19,6%) ; le palmitoate, dilinoléate de glyceryl (17,5%) ; le palmitoate, oléoate, linoléate de glycéryl (12,9%) et le dioléate, linoléate de glycéryl (9,6%). Les autres TG sont présents en quantité inférieure à 3%.

2.6 Mono- et di-acylglycérols [147]

Ce sont des mono et diesters de glycérol et d'acide gras.
L'étude à été réalisée en Allemagne en 2001 (la provenance des graines achetées à un grainetier allemand n'est pas connue).

L'huile a été extraite par Soxhlet. Deux solvants ont été utilisés : le *n*-hexane et un mélange chloroforme : méthanol (2 :1 en volume). La fraction des lipides neutres (AG libres, monoacylglycérols, diacylglycérols et triacylglycérols, stérols) a été isolée par chromatographie sur couche mince. Les lipides neutres ont été transformés en esters méthyliques et ces derniers ont été identifiés par chromatographie en phase gazeuse équipée d'un détecteur à ionisation de flamme. (***tableau 10***)

Tableau 10 *: Composition en monoacylglycérols et diacylglycérols (en pourcentage) de l'huile de graines de Nigella sativa extraite par 2 méthodes différentes.* ***[147]***

méthode d'extraction	extraction avec l'hexane		extraction avec $CHCl_3$.MeOH (2:1)	
classe de lipide	MAG[a] 0,41%[c]	DAG[b] 0,65%	MAG 0,44%	DAG 0,68%
ac.palmitique	32,50	8,98	29,80	18,90
ac.stéarique	0,60	n.d.	0,05	n.d.
ac.oléique	6,96	26,40	11,1	15,80
ac.linoléique	53,40	61,50	51,70	62,20
ac.éicosadiénoïque	6,54	3,12	6,77	2,96
ac.éicosénoïque	n.d.	n.d.	0,58	0,14

[a] MAG = monoacylglycérol ; [b] DAG = diacylglycérol
[c] = % de MAG et de DAG présents dans les lipides neutres (acides gras libres, monoacylglycérols, diacylglycérols, triacylglycérols et stérols esters).

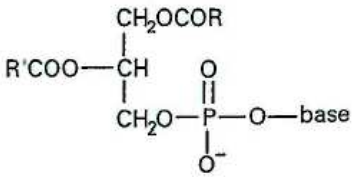
De même que pour les TAG ou les acides gras libres, l'acide linoléique reste l'acide gras majoritaire dans les MAG et les DAG quelque soit le mode d'extraction.

2.7 Phospholipides [96] [148]

Les phospholipides (PL) ont à la fois un intérêt nutritionnel thérapeutique (ils aideraient à diminuer le taux de cholestérol, auraient un effet protecteur hépatique et amélioreraient les fonctions cérébrales) et des applications technologiques (émulsifiants ou surfactants ; ils participent à la formation de liposomes).

C'est un ester de glycérols et d'acides gras, avec un groupe phosphate et un substituant basique (choline, éthanolamine ou sérine). Il existe aussi des PL avec un inositol à la place de la base organique.

Leur formule générale est :



Base = choline : —CH_2 CH_2NMe_3
ethanolamine : —CH_2 CH_2NH_2
serine : —CH_2 CH_2(NH)COOH

L'étude a été réalisée en Allemagne en 2002.
Les lipides totaux ont été extraits à partir des graines de Nigelle par un Soxhlet en utilisant deux solvants : du *n*-hexane (H) et un mélange chloroforme : méthanol (2 :1 en volume) (CM). Les différentes fractions de lipides ont été séparées par colonne chromatographique et les classes de PL ont été déterminées par CLHP. Les acides gras des PL ont été déterminés par chromatographie gaz liquide équipée d'un détecteur à ionisation de flamme.

Le ***tableau 11*** donne les valeurs en g/100g de lipides totaux.

Tableau 11 *: Différentes classes de phospholipides de l'huile des graines de Nigella sativa.* ***[148]***

Classe de PL	PG	PE	PI	LPE	PS	PC	LPC
Extraction par H	1,51 ± 0,03	25,10 ± 0,05	9,56 ± 0,01	1,200 ± 0,001	12,30 ± 0,03	46,10 ± 0,04	4,23 ± 0,01
Extraction par CM	1,56 ± 0,04	24,30 ± 0,03	8,99 ± 0,01	1,690 ± 0,003	11,80 ± 0,05	48,50 ± 0,03	3,16 ± 0,03

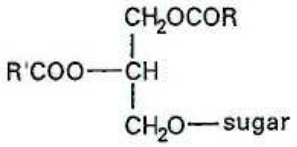
PG = phosphatidyl glycérol ; PE = phosphatidyl éthanolamine ; PI = phosphatidyl inositol ;
LPE = lysophosphatidyl éthanolamine ; PS = phosphatidyl sérine ; PC = phosphatidyl choline ;
LPC = lysophosphatidyl choline

Le phosphatidyl choline est le phospholipide majoritaire (avec 46,1 et 48,5 %) puis viennent ensuite PE, PS, PI, LPC.
L'étude analyse également la composition des PL en acides gras ; ici aussi, l'AGI majoritaire est l'acide linoléique ; et l'AGS principal est l'acide palmitique.

L'huile de *Nigella sativa* est donc une bonne source de phosphatidyl choline et de phosphatidyl éthanolamine.

2.8 Glycolipides [96] [149]

Ce sont des esters de glycérols et d'acides gras et la troisième fonction alcool du glycérol porte un sucre.
Ils font partie des lipides polaires avec les phospholipides. Leur formule générale est :



L'analyse de la teneur en glycolipides (GL) a été réalisée en Allemagne en 2002.
L'extraction des lipides totaux s'est faite à partir des graines par Soxhlet en utilisant comme solvant le mélange chloroforme/méthanol (2 :1 en volume). Les lipides totaux ainsi obtenus ont été séparés dans une colonne chromatographique. Les solvants éluants pour séparer les lipides neutres et les glycolipides (GL) étaient respectivement le chloroforme et l'acétone. La fraction des GL a ensuite été analysée par CLHP couplée à une analyse par ultraviolets.

La quantité de GL totaux trouvée était de 2,59 g/100g de lipides totaux. (***tableau 12***)

Tableau 12 *: Les différentes classes de glycolipides (GL) de l'huile des graines de Nigella sativa****. [149]***

Sous classes de glycolipides	Teneur en g/100g de GL
ASG	9,95
MGD	7,88
SG	9,45
CER	11,90
DGD	55,60
SQD	5,08

ASG = glucoside acétylé de stérol
MGD = monogalactosyl diacylglycérol
SG = glucoside de stérol
CER = glucocérébroside
DGD = diglucoside diacylglycérol
SQD = sulfoquinovosyl diacylglycérol

Six GL ont été mis en évidence dans ces graines de Nigelle.

Le GL largement majoritaire est le diglucoside diacylglycérol avec 55,60 g/100G de GL. On trouve ensuite le glucocérébroside, puis le glucoside acétylé de stérol et le glucoside de stérol en proportions presque équivalentes ; le monogalactosyl diacylglycérol le sulfoquinovosyl diacylglycérol sont les deux GL minoritaires.
Les quantités quotidiennes moyennes absorbées dans la ration alimentaire sont, pour les différentes classes de GL:

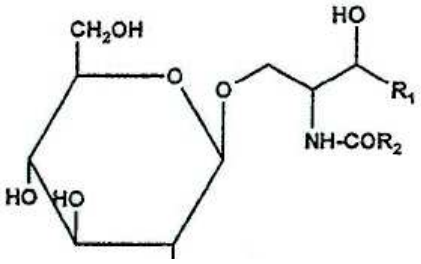
ASG : 140mg ; MGD : 90mg ; SG : 65mg ; CER : 50mg ; DGD : 220mg

Les graines de *Nigella sativa* sont donc sans aucun doute une excellente source alimentaire de GL.

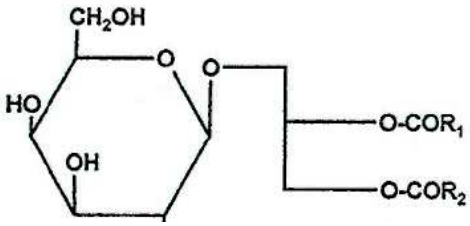
L'analyse de la composition en AG des GL a été réalisée par chromatographie gaz-liquide couplée à une détection par ionisation de flamme.
Elle révèle que l'acide gras majoritaire est l'acide linoléique suivi de l'acide oléique et de l'acide palmitique.

Formules :

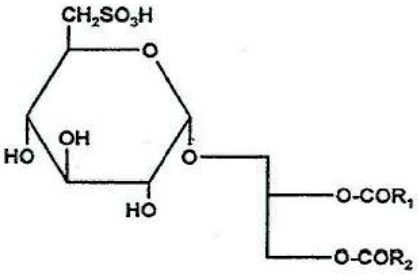
R_1 et R_2 sont des chaines d'acides gras.



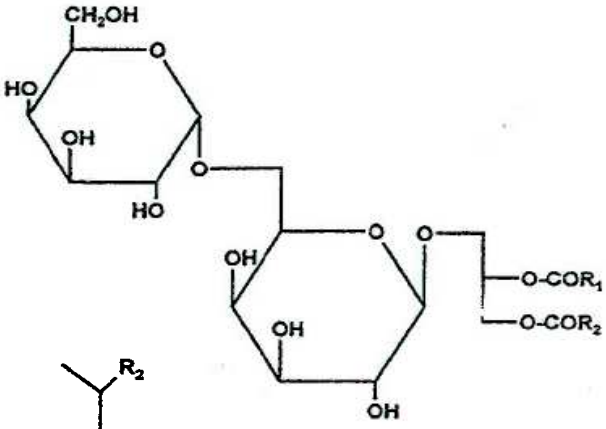
glucocérébroside



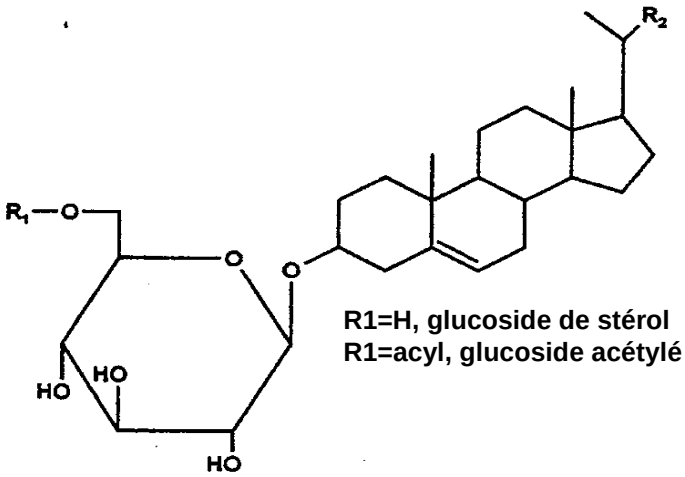
monogalactosyl diacylglycérol



sulfoquinovosyl diacylglycérol



diglucoside diacylglycérol



R1=H, glucoside de stérol
R1=acyl, glucoside acétylé de stérol

2.9 Stérols [128]

L'analyse de la composition en stérols de l'huile de *Nigella sativa* a été réalisée sur des graines de Grèce, en1985.
Après extraction par l'acétone, le fractionnement par chromatographie sur colonne a permis de séparer 4 fractions de stérols : les esters de stérols (ES), les stérols libres (SL), les stérols glycosylés (SG) et les stérols glycosylés et acétylés (SGA). Après hydrolyse des 4 fractions pour libérer les acides gras et les sucres, la chromatographie sur couche mince a permis de séparer les stérols, les 4-methylstérols et les alcools triterpéniques qui furent identifiés par chromatographie gaz-liquide couplée à la détection par ionisation de flamme et par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
Voir le ***tableau 13*** pour les différentes fractions de stérols.

Tableau 13 *: Les fractions stérols de l'huile de graines de Nigella sativa.* ***[128]***

FRACTIONS		quantité en mg/100g d'huile
SL	stérols	40,0
	4-méthyl stérols	4,5
	alcools triterpéniques	8,2
ES	stérols estérifiés	2,6
	4-méthyl stérols estérifiés	3,7
	alcools triterpéniques estérifiés	9,5
SGA		42,0
SG		33,0

Les quatre fractions sont représentées dans les proportions suivantes :
- stérols libres : 36,7 %
- stérols glycosylés et acétylés : 29,3 %
- stérols glycosylés : 23 %
- stérols estérifiés : 11 %

Les stérols glycosylés (SGA + SG) sont la forme majeure de stérols avec 52,3%.
Ensuite, les stérols ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse. (confère ***tableau 14***)

9 stérols ont été identifiés ; il s'agit du cholestérol, du campestérol, du campestanol, du stigmastérol, du sitostérol, du stigmastanol, du Δ5-avénastérol, du Δ7-avénastérol et du Δ7-stigmasténol.
Le sitostérol est le stérol très majoritaire ce qui n'est pas étonnant car il est très largement répandu dans les lipides végétaux ; il est suivi du stigmastérol puis du campestérol. La particularité vient du Δ5-avénastérol, composé rencontré plus rarement chez les plantes.

7 méthyl stérols ont été révélés : 5 de ceux-ci sont présents en quantité relativement importante : 24-méthyllophénol, cycloeucalénol, gramistérol, obtusifoliol et citrostadiénol ; les 2 autres sont à l'état de traces : lophénol et 4-éthyllophénol.

Parmi les alcools triterpéniques la béta-amyrine classiquement présente dans les végétaux n'est que faiblement représentée chez la Nigelle. Les composés majoritaires sont le cycloarténol et le 24-méthylenecycloartanol. Nous trouvons aussi du butyrospermol, du taraxérol et des traces de tirucallol.

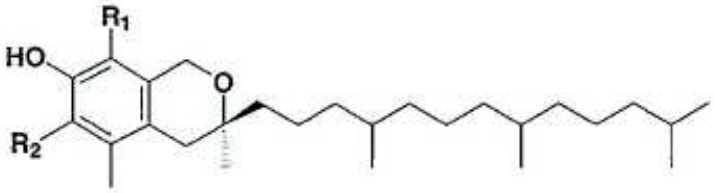
Les formules sont visibles dans **l'annexe I.**

Tableau 14 *: Nature des stérols et triterpènes contenus dans l'huile de graines de Nigella sativa.* ***[128]***

ACETATE	COMPOSITION EN %			
	SL	**ES**	**SG**	**SGA**
stérols				
cholestérol	0,6	1,1	0,2	0,3
campestérol	11,9	} 15,2	9,6	10,9
campestanol	—		—	—
stigmastérol	20,8	8,8	18,5	16,1
b-sitostérol	61,8	} 60,0	69,9	72,7
stigmastanol	—		—	—
d5-avénastérol	4,9	11,7	1,8	traces
d7-stigmasténol	—	traces	—	—
d7-avénastérol	—	3,2	—	—
4-méthylstérols				
lophénol	—	traces		
obtusifoliol	26,0	40,0		
24-méthyllophénol				
cycloeucalénol	} 45,6	} 48,2		
gramistérol				
24-éthyllophénol	—	1,3		
citrostadiénol	28,4	10,5		
alcools triterpéniques				
tirucallol	traces	traces		
taraxérol	1,3	1,0		
béta-amyrine	} 7,1	} 3,2		
butyrospermol				
cycloarténol	39,6	31,6		
24-méthylènecycloartanol	} 52,0	} 64,2		
non identifié				

2.10 Tocophérols [50] [172]

Les tocophérols sont le groupe des vitamines E ; antioxydants naturels.
On les retrouve dans la partie insaponifiable de l'huile.
Leur formule générale est la suivante :



$R_1 = R_2 = CH_3$: *α-tocophérol* ; $R_1 = CH_3$, $R_2 = H$: *β-tocophérol*
$R_1 = H$, $R_2 = CH_3$: *γ-tocophérol* ; $R_1 = R_2 = H$: *δ-tocophérol*

En 1995, ZEITOUN et NEFF (Egypte/Etats-Unis) ont déterminé la teneur en tocophérols de graines de Nigelle égyptiennes.
Les graines ont été pressées mécaniquement à froid à l'aide d'une presse à vis.
Après avoir été diluée dans du *n*-hexane (1 :1 en volume), l'huile a été soumise à une CLHP utilisant comme système de solvant : de l'hexane : isopropanol (99 : 1, vol/vol) pour déterminer ainsi directement la composition en tocophérols. (confère ***tableau 15***)

Tableau 15 *: Composition en tocophérols de l'huile de graines de Nigella sativa d'Egypte.* ***[172]***

tocophérol	mg de tocophérol par kg d'huile
alpha	42,9 ± 1,6
béta	26,3 ± 2,0
gamma	118,7 ± 5,5
delta	4,8 ± 0,2
total	**192,7**

Le gamma tocophérol est de loin le plus abondant (118,7mg), suivi de l'alpha tocophérol (42,9 mg), du bêta tocophérol (26,3 mg) et enfin du delta tocophérol présent en faible quantité (4,8 mg).
La quantité totale de tocophérols (192,7 mg/kg d'huile) présente dans l'huile des graines de *Nigella sativa* est très inférieure aux quantités totales généralement reportées pour d'autres huiles végétales (530 à 1500 mg/kg d'huile).

2.11 Composés phénoliques et quinoniques [88] [140]

2.11.1 Teneur totale en dérivés phénoliques [140]

En Turquie en 1993, Nergiz et Ötles ont déterminé la teneur en dérivés phénoliques de graines de Nigelle turques selon la méthode de Nergiz et Ünal (1991) **[141].**
La teneur totale de dérivés phénoliques trouvée était de **1744 ± 10.6 µg/g** d'huile.

2.11.2 Teneur en certains composés actifs [88]

Aux USA en 1998, une méthode par CLHP a été décrite pour quantifier quatre constituants présents dans une huile de Nigelle commerciale ("Albadawia") achetée en Egypte. Il s'agit des quinones : **thymoquinone**, **dithymoquinone** et **thymohydroquinone** ; et du composé phénolique : le **thymol**.
La chromatographie a été réalisée en utilisant un mélange d'eau, méthanol et 2-propanol (50-45-5 %) avec une colonne C18 en phase inverse.
La composition est visible dans le ***tableau 16.***

Tableau 16 *: Teneur en quinones d'une huile commerciale de graines de Nigella sativa.* ***[88]***

composants	teneur en % d'huile
thymoquinone	$5{,}26 \times 10^{-2}$ ± $2{,}59 \times 10^{-3}$
thymohydroquinone	$7{,}67 \times 10^{-4}$ ± $5{,}49 \times 10^{-5}$
dithymoquinone	non quantifiable[a]
thymol	$9{,}12 \times 10^{-3}$ ± $1{,}38 \times 10^{-3}$

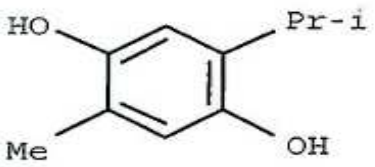
[a] = en dessous des limites quantifiables : $2{,}12 \times 10^{-4}$ % d'huile

Ce qui fait une teneur totale en thymoquinone + thymohydroquinone + thymol de **624,87 µg/g** d'huile ce qui est inférieur à la valeur déterminée dans l'étude du paragraphe précédent.
La provenance géographique des graines modifie certainement la composition chimique puisqu'une autre étude **[100]** a dosé la thymoquinone de différentes huiles fixes de graines de Nigelle et elle révèle une teneur 3 fois supérieure :

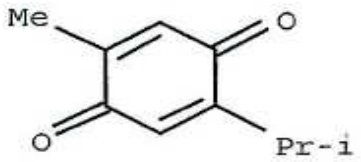
- Huile commerciale "Al-Amin" achétée en Arabie, de graines de provenance inconnue : 0,15%
- Huile commerciale "Al-Khaial" achétée en Arabie, de graines de provenance inconnue : 0,13%
- Huile extraite de graines éthiopiennes par Soxhlet à l'éther de pétrole : 0,17%

La thymoquinone est une quinone monoterpénique ; la dithymoquinone est son dimère, obtenu par photodimérisation et anciennement cité sous le nom de nigellone.
Nous retrouverons également ces quatre composés dans l'huile essentielle extraite des graines de *Nigella sativa*.

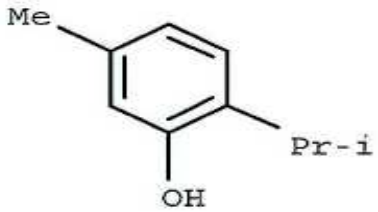
Formules :



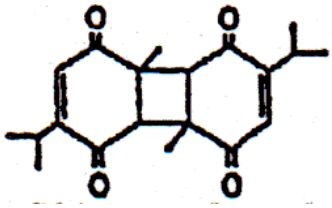
thymohydroquinone



thymoquinone



thymol



dithymoquinone

2 .11.3 Thymoquinone

La thymoquinone est une quinone monoterpénique : 1,4-dione,2-methyl,5-(-1-methylethyl) 2,5-cyclohexadiène.
Elle a la particularité d'être présente à la fois dans l'huile fixe (0,05% à 0,15 %) et dans l'huile essentielle où les teneurs sont très variables suivant la provenance : de 0,6 % à parfois plus de 25%.
La photodimérisation de la TQ aboutit à la dithymoquinone anciennement citée sous le nom de nigellone.

Mode d'extraction [100]

Après extraction par méthanol : eau (6 :1) d'un mélange d'huile et d'éther de pétrole, la phase méthanolique est soumise à une chromatographie sur colonne de silice avec 3 éluants successifs : éther de pétrole, chloroforme, méthanol. La chromatographie en phase gazeuse révèle que la thymoquinone est présente dans la phase chloroformique ; la molécule est séparée par CCM et est identifiée par ses caractéristiques chromatographiques et spectrales en comparaison avec celles de la thymoquinone de référence (Sigma Chemical Company).

2.12 Conclusion

L'huile de *Nigella sativa* est composée majoritairement de triacylglycérols (57,5 à 63,2%) et d'une grande proportion d'acides gras libres : 8,3 à 14,2% (ceci à cause de la présence de lipase).
L'acide linoléique est le principal acide gras libre présent à hauteur de 49 à 59%.

Cette huile renferme également des phospholipides, des glycolipides et des stérols.
Les stérols sont des stérols libres ou des stérols glycosylés et/ou estérifiés. Notons quelques stérols particuliers : le Δ5-avénastérol (stérol libre) et les méthyl stérols suivants : 24-méthyllophénol, cycloeucalénol, gramistérol, obtusifoliol et citrostadiénol.

L'huile de Nigelle ne contient que peu de tocophérols, comparée à d'autres huiles végétales.

La particularité de l'huile de *Nigella sativa* est la présence de quinones : thymoquinone et thymohydroquinone ; et d'un composé phénolique : thymol.
Ces quinones sont les composés actifs de l'huile de Nigelle qui, nous le verrons, lui confèrent d'importantes propriétés pharmacologiques.
Elles sont en outre des marqueurs de l'huile essentielle, la thymoquinone en étant parfois un des constituants majoritaires.

3 Huile essentielle

Lorsque l'on étudie l'huile essentielle (HE) d'une plante, il faut absolument tenir compte des **facteurs de variabilité** qui entraînent des différences très importantes de sa composition et de la répartition en chacun des constituants.
Ces facteurs sont : les facteurs extrinsèques : pratiques culturales et facteurs environnementaux (température, humidité, vents…) ; l'influence du cycle végétatif et les différents procédés d'obtention.
D'où l'existence de plusieurs chimiotypes selon la localisation géographique : chaque chimiotype caractérise une HE de même espèce par le nom de sa molécule principale.

3.1 Caractéristiques

Les graines de *Nigella sativa* contiendraient entre 0,4 % et 0,5 % d'HE.
Cette HE est un liquide jaune pâle avec une odeur caractéristique.
Elle est normalement obtenue par distillation à la vapeur d'eau des graines broyées de *Nigella sativa*. L'HE est récupérée dans l'éther éthylique qui est ensuite évaporé.
Une autre méthode pour l'obtention de l'HE a été décrite par Rathee et *al.* en 1982 **[151].** En utilisant une extraction à l'éther de pétrole (60-80°) on obtient 35% d'une huile, qui après distillation révèle l'HE à un taux de 1,5%.

3.2 Composition

En 1986, **[3]** la séparation des différents constituants de l'HE de graines de *Nigella sativa* en provenance d'Egypte a été obtenue par CPG couplée à la spectrométrie de masse.
Les composants ont été identifiés par leur temps de rétention et par comparaison de leur spectre de masse par rapport à ceux des produits de référence.
67 composants ont ainsi été déterminés et sont répertoriés dans le ***tableau 17.***

Tableau 17 *: Composition de l'huile essentielle de graines de Nigella sativa.* ***[3]***

N° du pic	composants	pourcentage
1	**α-pinène**	**9,30**
2	camphène	0,06
3	hexanal	0,07
4	b-pinène	2,20
5	sabinène	0,76
6	myrcène	0,05
7	α-terpinène	0,06
8	limonène	1,60
9	β-phéllandrène	0,01
10	1,8-cinéole	0,08
11	ester éthylique de l'acide hexanoïque	0,01
12	C_3H_7-S-S-C_2H_5	<0,01
13	g-terpinène	0,51
14	**p-cymène**	**31,70**
15	terpinolène	0,06
16	C_3H_7-S-S-C_3H_7 I	0,05
17	2-hepténal	0,13
18	ester éthylique de l'acide heptanoïque	0,01
19	C_4H_9-S-S-C_2H_5	0,05
20	artémisia cétone	0,14
21	C_4H_9-S-S- C_3H_7 I	0,13
22	C_4H_9-S-S- C_4H_9 I	0,01
23	C_3H_7-S-S- C_3H_7 II	0,01
24	C_4H_9-S-S- C_3H_7 II	0,08
25	ester éthylique de l'acide octanoïque	0,07

26	C_4H_9-S-S- C_4H_9 II	0,17
27	β-thujone	0,01
28	trans-hydrate sabinène	0,07
29	longipinène	0,18
30	camphre	0,06
31	ester éthylique de l'acide nonanoïque	<0,01
32	linalol	0,06
33	cis-hydrate sabinène	0,01
34	longifolène	0,78
35	acétate de bornyl	
36	2-undécanone	0,05
37	4-terpinéol	0,58
38	ester éthylique de l'acide décanoïque	<0,01
39	2-dodécenal	<0,01
40	1,8-p-menthadiène-4-ol	<0,01
41	carvotanacétone	0,01
42	bornéol	<0,01
43	carvone	0,19
44	**thymoquinone**	**24,50**
45	2-tridécanone	0,01
46	trans-anéthole	0,05
47	ester éthylique de l'acide dodécanoïque	<0,01
48	p-cymène-8-ol	0,13
49	p-anisaldéhyde	<0,01
50	ester éthylique de l'acide tetradécanoïque	0,22
51	4-hydroxy-4-méthyl-2-cyclohexénone	0,01
52	ester éthylique de l'acide pentadécanoïque	0,01
53	thymol	0,01
54	carvacrol	1,10
55	ester méthylique de l'acide hexadécanoïque	0,08
56	ester éthylique de l'acide hexadécanoïque	2,80
57	ester éthylique de l'acide hexadécénoïque	0,09
58	ester éthylique de l'acide heptadécanoïque	<0,01
59	ester méthylique de l'acide octadécanoïque	<0,01
60	ester méthylique de l'acide oléique	0,05
61	ester éthylique de l'acide octadécanoïque	0,21
62	ester éthylique de l'acide oléique	2,70
63	ester méthylique de l'acide linoléique	0,20
64	ester éthylique de l'acide linoléique	9,40
65	ester éthylique de l'acide linolénique	0,05
66	acide hexadécanoïque	0,15
67	thymohydroquinone	0,64

L'HE extraite contient environ 46% d'hydrocarbures monoterpéniques dont le principal est le ρ–cymène (≈ 32%) et l' α–pinène (≈ 9%).
Un autre composant principal est la thymoquinone (24,5%).
L'HE contient également du carvacrol (1,1%) et de la thymohydroquinone (0,64%).

Il est très intéressant de noter la présence en faible quantité de 8 disulfides car ceux-ci peuvent contribuer par leur teneur en soufre à la qualification de saveur piquante attribuée aux graines de Nigelle.

3.3 Variations de la composition

Les analyses ci-dessous portant sur des graines de Nigelle provenant de 2 régions différentes d'Iran, permettent déjà d'apprécier des différences.
La 3ème étude réalisée en Italie fait apparaître de nouveaux composés dans l'HE des graines de Nigelle.

3.3.1 Etude de Hasanzadeh, Ramazanie et Golmohammadzadeh, Iran, 2000 [97]

Les graines de Nigelle ont été récoltées dans une région du Nord Est de l'Iran.
La teneur en hydrocarbures monoterpéniques est ici beaucoup plus élevée : 73,7%.
18 composés ont été identifiés.
On trouve par ordre décroissant les composés suivants :

- ρ–cymène : 41,7%
- γ–terpinène : 12,8%
- α–campholénal : 9,7%
- α–thuyène : 8,2%
- longifolène : 3,3%
- limonène : 3%
- β–pinène : 2,9%
- carvacrol : 2,2%
- α–longipinène : 2,1%
- thymoquinone : 2%
- α–pinène : 2%
- 4-terpinéol : 1,9%
- dihydrocarvone (cis) : 1,8%
- α–terpinène : 1,8%
- acétate de 4-terpinènyle : 1,5%
- sabinène : 1,3%
- carvone : 0,63%
- verbénol (trans) : 0,62%
- thymol et thymohydroquinone : non détectés
- disulfides : non détectés.

Le ρ–cymène reste le composé majoritaire présent ici en plus grande quantité (41,3% contre 31,7% dans l'étude précédente).
La thymoquinone est la seule quinone retrouvée, et en quantité nettement plus faible : 2%.
Aucun des huit disulfides n'ont été révélés ici.
Pour le campholénal, on note que les proportions sont très différentes : absent dans l'étude précédente, il est ici le composé arrivant en 3ème position avec 9,7%.

3.3.2 Etude de Nickavar, Mojab, Javidnia et Roodgar, Iran, 2003 [142]

Pour cette étude, les graines de *Nigella sativa* proviennent d'un marché local de Téhéran.
Les hydrocarbures monoterpéniques sont ici retrouvés à un taux de 26,9% ; ce qui est proche de l'étude du paragraphe **3.2** réalisé sur des graines de Nigelle égyptiennes.

On trouve par ordre décroissant les composés suivants :

trans–anéthole :	38,3%	4–terpinéol :	0,7%
ρ–cymène :	14,8%	longifolène :	0,7%
limonène :	4,3%	α–phellandrène :	0,6%
carvone :	4%	thymoquinone :	0,6%
α–thuyène :	2,4%	1–mehyl–3–propyl benzène :	0,5%
estragole :	1,9%	1,3,5–triméthyl benzène:	0,5%
dill-apiole :	1,8%	γ–terpinène :	0,5%
anisaldéhyde :	1,7%	*p*–cymène–8–ol :	0,4%
n–nonane :	1,7%	*n*–décane :	0,4%
carvacrol :	1,6%	myrcène:	0,4%
myristicine :	1,4%	3–méthyl nonane :	0,3%
sabinène :	1,4%	dihydrocarvone :	0,3%
β–pinène :	1,3%	α–longipinène :	0,3%
α–pinène :	1,2%	1–éthyl–2,3–diméthyl benzène :	0,2%
fenchone :	1,1%	*n*–tetradécane :	0,2%
apiole :	1%	*n*–hexadécane :	0,2%

thymol et thymohydroquinone : non détectés
disulfides : non détectés.

Le trans–anéthole présent en faible quantité dans les graines de Nigelle égyptiennes **[3]** : 0,05% et non détecté dans les graines du nord-est de l'Iran **[97],** est ici le composé majoritaire : 38,3%. Ceci aura pour conséquence de lui attribuer une odeur totalement différente de celles des 2 études précédentes.
Ici on ne retrouve pas le thymol mais son isomère le carvacrol.
Les disulfides sont absents ainsi que la thymohydroquinone et on a seulement 0,6% de thymoquinone.
Le ρ–cymène est le seul composé majeur relativement constant bien que ses teneurs varient : de 14,8% ici contre 41,7% dans les graines du nord-est de l'Iran.

Ces derniers résultats montrent de grandes variations, même lorsqu'il s'agit de plantes provenant de régions différentes d'un même pays car la notion de conditions environnementales influence très fortement les compositions chimiques des HE d'une même espèce.

3.3.3 Etude de D'Antuono, Moretti et Lovato ; Italie, 2001 [58]

Ces auteurs ont étudié l'effet de trois cultures différentes, c'est à dire semées (3 mars, 9 avril et 7 mai) et récoltées à trois dates différentes (19 et 25 juillet et 1er août) sur la composition en HE de graines de *Nigella sativa* originaires du Maroc.
Ces cultures ont été réalisées dans le nord de l'Italie (Bologne).

Les composés mis en évidence sont :

thuyène	thuyol
α–pinène	thymoquinone
sabinène	myrténol
β–pinène	thymol
myrcène	β–bourbonène + β–caryophyllène
α–terpinène	β–élémène
o–cymène	longifolène
ρ–cymène	β–sélinène
limonène	α–sélinène
γ–terpinène	germacrène A
trans hydrate de sabinène	7–épi–sélinène

Tout d'abord, les auteurs font apparaître encore d'autres composés : thuyol, myrténol, β–bourbonène, β–élémène, α et β–sélinène, germacrène A et 7–épi–sélinène ; d'autre part la thymohydroquinone et les disulfides sont absents.
Une interprétation exhaustive de ces données n'est pas possible dans le cadre des résultats obtenus dans cette recherche, néanmoins l'étude montre une grande variabilité de la composition en HE selon les dates de culture avec :

- une teneur en HE totale extraite variant de 0,28% (2ème culture) à 0,5% (1ère culture).
- des composés absents dans la 2ème culture.
- des composés apparaissant lors de culture tardive (sesquiterpènes à haut poids moléculaire).

Nous pouvons penser que les conditions climatiques des mois de mars, avril et mai ont joué un rôle important dans la variation de la composition de l'HE.

3.4 Conclusion

Les expériences **[58], [97], [142]** et **[3]** montrent des variations importantes de la composition de l'HE de graines de *Nigella sativa* L.
Nous remarquons que certaines études ne révèlent pas la présence des dérivés de la thymoquinone ni celle des disulfides. La thymoquinone n'est parfois présente qu'en très faible quantité.
Ce que nous avons pu voir dans ces différents travaux illustre bien la notion de facteur de variabilité :

- L'influence des facteurs extrinsèques : l'étude réalisée en Italie **[58]** montre la grande variabilité des composants résultant de conditions de plantations différentes. D'autre part les conditions géographiques semblent relativement modifier l'HE résultante comme le montre les analyses sur les graines de Nigelle d'Egypte et d'Iran : **[97], [142]** et **[3].**
- L'influence du cycle végétatif : l'expérience de l'étude sur les 3 cultures différentes **[58]** donne une idée des variations que peut entraîner la récolte à différents moments de la maturation des graines.

- L'influence des procédés d'obtention : dans les expériences **[97], [142]** et **[3],** avant d'être distillées, les graines n'ont pas toujours subi les mêmes traitements, ce qui a pu contribuer à extraire plus ou moins de composés.
- La notion de chimiotype : actuellement, aucun chimiotype n'a été déterminé pour l'HE de graines de *Nigella sativa* L. Nous avons vu l'immense étendue géographique allant du bassin méditerranéen jusqu'à l'Extrême-Orient, concernée par les cultures de cette espèce ; à partir de là on peut imaginer la probable existence de différents chimiotypes. Or, les chimiotypes d'une HE orientent chacun à leur manière les propriétés pharmacologiques, et donc l'utilisation thérapeutique de cette HE ne pourra se faire sans en connaître sa teneur exacte. Des expériences plus poussées seraient nécessaires pour répertorier ces chimiotypes.

Nous devrons garder à l'esprit la grande variabilité de la teneur en thymoquinone lors d'études pharmacologiques avec l'HE car il pourra arriver :

- que les résultats obtenus soient contradictoires.
- qu'une activité propre à la thymoquinone ne soit pas retrouvée avec l'HE.

4 Saponoside

Les saponosides font partie des hétérosides neutres de terpènes; ils sont très largement distribués dans les végétaux.
Une de leurs caractéristiques est leur propriété tensioactive : les saponosides se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes.

Dans tous les cas, les saponines trouvées dans les graines de Nigelle ont pour aglycone l'hédéragénine, une génine triterpénique. **[50] [118]**

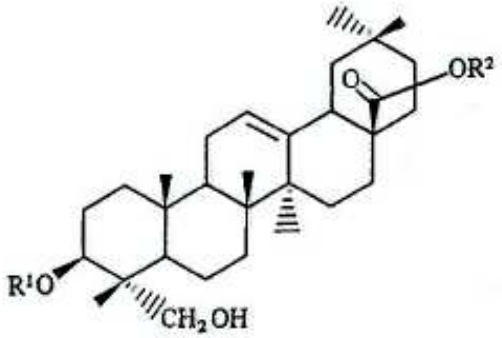
4.1. Etude de *Akbar Ali Ansari* et *al.* , Pakistan, 1988 [20]

Ces auteurs ont identifiés une saponine triterpénique.
L'extrait éthanolique de graines de Nigelle du Pakistan a révélé une fraction contenant une saponine après séparation par l'acide chlorhydrique et le *n*-butanol. Le composé a été isolé par chromatographie sur colonne de silice et analysé par RMN du ^{1}H et du ^{13}C ce qui a révélé un acide triterpénique et 6 sucres.

Le composé identifié est :

3–O–[β–D–xylopyranosyl–(1→3)–α–L–rhamnopyranosyl–(1→2) –α–L–arabinopyranosyl]–28–O–[α–L– rhamnopyranosyl –(1→4) –β–D–glucopyranosyl–(1→6) –β–D–glucopyranosyl]–hédéragénine

Confère ci-dessous formule **1** :



1 R^1 = β-D-Xylp-(1-3)-α-L-Rhap-(1-2)-α-L-Arap-(1-
R^2 = α-L-Rhap-(1-4)-β-D-Glcp-(1-6)-β-D-Glcp-(1-

2 R^1 = β-D-Xylp-(1-3)-α-L-Rhap-(1-2)-α-L-Arap-(1-
R^2 = H

Différentes saponines avec l'hédéragénine comme aglycone ont été trouvées dans les végétaux. La plupart d'entre eux contiennent les sucres : L–arabinose, D–xylose, D–glucose et L–rhamnose ; ils estérifient l'hydroxyl en position 3.
Une saponine similaire a été retrouvée dans une autre Renonculacée : *Anemone rivularis*, la seule différence porte sur le groupe D–xylopyranosyl qui est remplacé par un groupe D–ribopyranosyl chez *Anemone rivularis.*

4.2 Etude de Singab et *al*., Egypte, 1999 [157]

Ces auteurs ont mis en évidence la même saponine que précédemment à partir de l'extrait butanolique de graines de Nigelle d'Egypte, ainsi qu'une autre saponine triterpénique caractérisée ainsi :

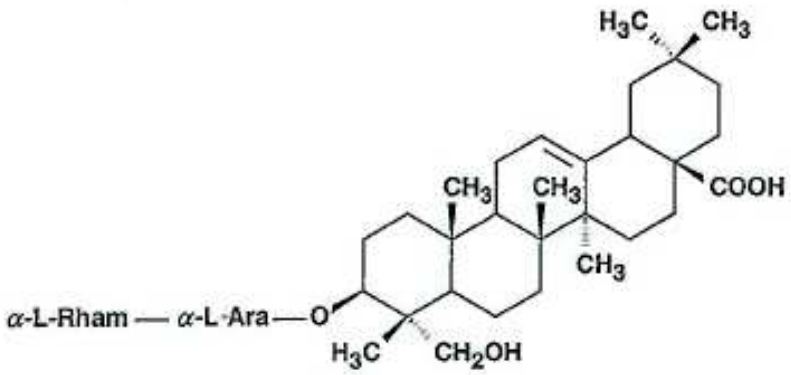
3–O–[β–D–xylopyranosyl–(1→3)–α–L–rhamnopyranosyl–(1→2)–α–L–arabinopyranosyl]–hédéragénine.

(confère ci-dessus formule 2.)

4.3 Etude de Kamara et Huat, Singapour, 2001 [118]

En 2001 à Singapour, Kumara et *al.* ont pu isoler un saponoside à partir des graines de *Nigella sativa*.
C'est au cours d'essais biologiques et plus particulièrement concernant les effets cytotoxiques *in vitro* qu'a été identifiée cette saponine triterpénique.
Le composé pur a été isolé après extraction des graines par acétate d'éthyle et fractionnement par chromatographie sur colonne de silice.
On a ensuite procédé à sa caractérisation analytique et chimique : définition de son pouvoir rotatoire, chromatographie sur couche mince, CLHP, RMN ^{1}H et ^{13}C.
Le saponoside identifié est l'**α-hédérine**, une saponine triterpénique monodesmosique caractérisée ainsi :

3–O– [α–L–rhamnopyranosyl–(1→2) –α–L–arabinopyranosyl] –hédéragénine de formule :



Ce composé avait été isolé précédemment à partir des feuilles de Lierre grimpant (*Hedera helix* – Araliacées). Il est largement présent dans la nature sous différents noms : koronaroside A et sapindoside A.

Une analyse spectrale plus poussée de l'aglycone, l'hédéragénine avait été réalisée antérieurement par Joshi et *al.* en 1999 **[108].**

4.4 Conclusion

La graine de Nigelle renferme plusieurs saponosides dont l'aglycone est toujours l'hédéragénine. Ces saponosides peuvent contenir 2, 3 ou 6 sucres.

5 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés essentiellement présents chez les Angiospermes, certaines familles ont d'ailleurs une tendance marquée à en élaborer, les Renonculacées en font partie en particulier l'Aconit.
Les plantes produisant ces composés se contentent rarement d'un seul alcaloïde ; elles en contiennent en général un mélange complexe.

5.1 Historique

12 alcaloïdes ont été retrouvés dans les graines de *Nigella sativa.*

- Au Pakistan :
  1985 : Nigellimine N-oxyde : alcaloïde isoquinoléique **[26]**
  1985 : Nigellicine : alcaloïde indazolique **[24]**
  1992 : Nigellimine : alcaloïde isoquinoléique **[25]**
  1993 : Nigellidine : alcaloïde indazolique **[27]**
  Ces découvertes ont été menées par Atta-Ur-Rahman et *al.*
- Au Japon :
  2003 : Nigellamine A1, A2, B1, B2 alcaloïdes diterpéniques type-dolabellane **[134]**
  2004 : Nigellamine A3, A4, A5, C " " " " **[133]**
  Ces découvertes ont été menées par Morikawa et *al*.

5.2 Alcaloïdes isoquinoléiques et indazoliques [24 à 27]

Les graines de Nigelle sont dégraissées avec de l'éther éthylique.

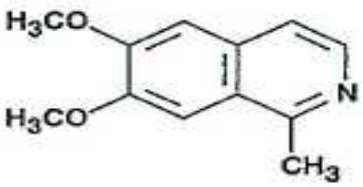
5.2.1 Extraction des alcaloïdes isoquinoléiques

Dans chacune des études, **[26]** et **[25],** ces alcaloïdes ont été extraits de la façon suivante :

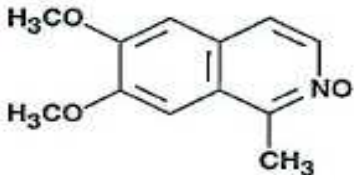
Les graines dégraissées sont alcalinisées, puis extraites par du chloroforme. Le résidu est soumis à une chromatographie sur colonne.

L'alcaloïde isolé est optiquement inactif ; il est ensuite déterminé par spectroscopie UV, par résonance magnétique nucléaire (RMN) de ^{1}H et ^{13}C, et diffraction par rayon-X.

Les deux alcaloïdes isoquinoléiques ainsi caractérisés sont :



nigellimine



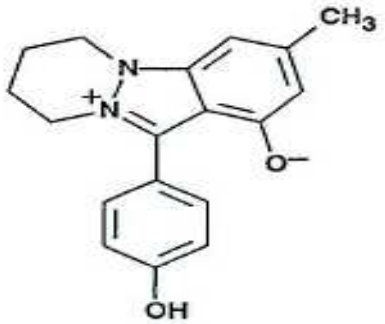
nigellimine N-oxyde

5.2.2 Extraction des alcaloïdes indazoliques

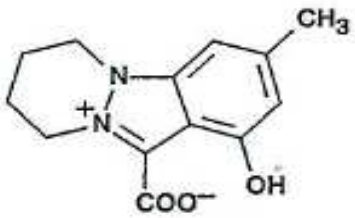
Dans chacune des études **[24]** et **[27]**, ces alcaloïdes ont été extraits de la façon suivante :

Le résidu dégraissé est acidifié par de l'acide chlorhydrique à 5%, filtré, alcalinisé (à pH 8-9) par de l'ammoniaque concentré et extrait par du chloroforme. Le résidu obtenu est soumis à une chromatographie sur Silicagel 60. Puis les alcaloïdes isolés sont caractérisés par étude de leur spectre de masse, par spectroscopie UV, par spectroscopie IR, par RMN (^{1}H et ^{13}C), et diffraction par rayon-X.

Les deux alcaloïdes indazoliques ainsi caractérisés sont :



dine



nigellicine

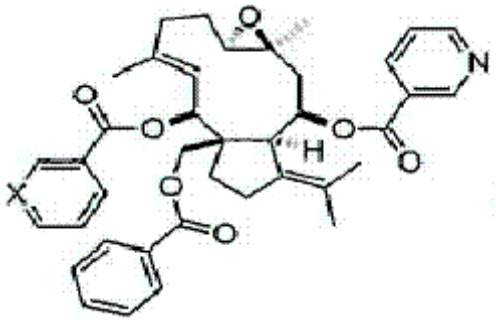
5.3 Alcaloïdes diterpéniques type-dolabellane

Les alcaloïdes terpéniques ne sont pas issus du métabolisme d'un acide aminé ; ce sont en fait des terpénoïdes (mono-, di- ou sesquiterpènes) qui tardivement ont incorporé un atome d'azote. Ceci conduit certains auteurs à les considérer comme des pseudo-alcaloïdes.
Les alcaloïdes diterpéniques actuellement connus sont en majorité isolés à partir de diverses Renonculacées.
Leur structure est toujours complexe. **[50]**

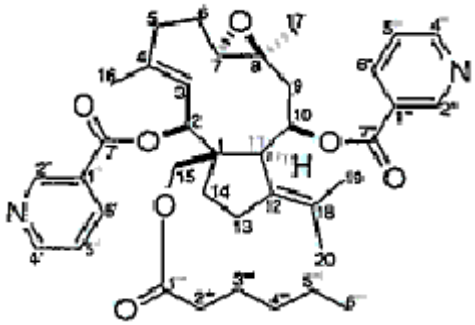
Etude des alcaloïdes [133] [134]

Les graines de *Nigella sativa* sont extraites par du méthanol. L'extrait méthanolique est lavé à l'acétate d'éthyle. C'est la phase soluble dans l'acétate d'éthyle qui est étudiée. Après plusieurs chromatographies sur colonne et CLHP, on obtient les alcaloïdes purs, déterminés chacun selon leur pouvoir rotatoire, leur spectre UV, leur spectre IR et par RMN (^{1}H et ^{13}C).

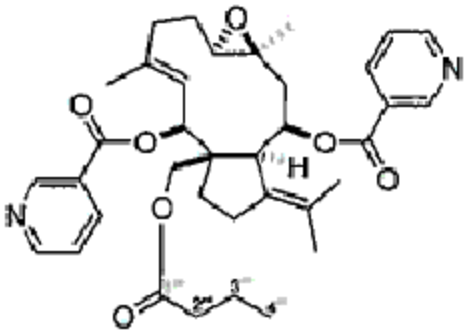
Huit alcaloïdes diterpéniques type-dolabellane sont mis en évidence sous les noms de Nigellamine A1, A2, A3, A4, A5, B1, B2, C ; de formules :



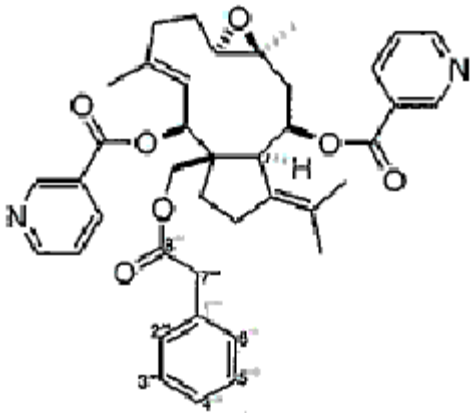
nigellamine A1 : X = CH
nigellamine A2 : X = N



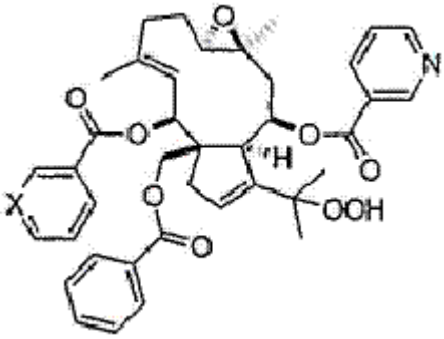
nigellamine A3



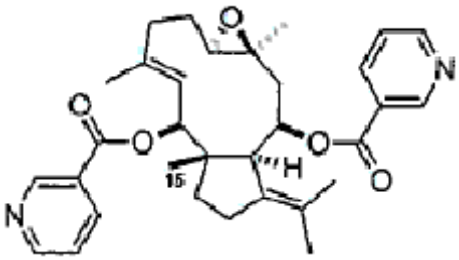
nigellamine A4



nigellamine A5



nigellamine B1 : X = CH
nigellamine B2 : X = N



nigellamine C

5.4 Conclusion

Avec ces 12 alcaloïdes jamais mis en évidence auparavant dans d'autres plantes, on peut qualifier *Nigella sativa* de plante à alcaloïdes.
Dans la famille des Renonculacées, chez l'aconit, nous retrouvons un seul type d'alcaloïde diterpénique : l'aconitine.

Ce qui est très intéressant dans la graine de Nigelle c'est cette présence concomitante d'alcaloïdes de trois structures de base différentes :

- alcaloïdes isoquinoléiques
- alcaloïdes indazoliques
- alcaloïdes diterpéniques de type-dolabellane.

Ceci est une caractéristique rarement observée.

6 Composés phénoliques

6.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les pigments des végétaux ; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.
Ils sont aussi universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles assurant la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV.
Les flavonoïdes constituent un large groupe de composés polyphénols comprenant les flavones, les flavonols, les aurones, les chalcones et leurs hétérosides.
Dans la Nigelle on retrouve des hétérosides de flavonols. **[50] [131]**

6.1.1 Etude de Merfort et al. , Allemagne, 1997 [131]

En 1997, en Allemagne les auteurs Merfort et *al.* ont mis en évidence ces composés.
Après dégraissage des graines à l'hexane, l'extrait hydroalcoolique subit plusieurs chromatographies sur colonne de polyamide, sephadex pour isoler les produits purs. L'hydrolyse enzymatique permet d'étudier les sucres. Les produits terminaux sont identifiés par leurs caractéristiques spectrales : UV, spectre de masse, RMN ^{1}H et ^{13}C.

Les flavonoïdes de la graine de *Nigella sativa* sont :
- des flavonol triglycosides pour les composés **1**, **2** et **3** ;
- des flavonol monoglycosides pour les composés **4**, **5** et **6.**

Ils furent caractérisés comme suit :

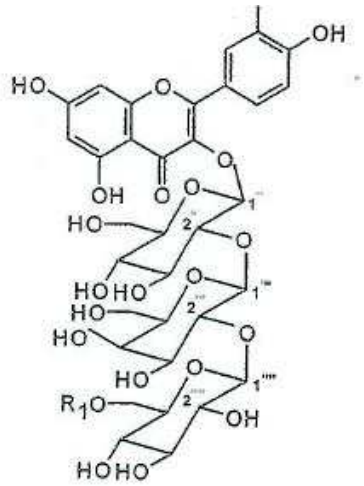
- **1** = quercétine 3–*O*–*β*–glucopyranosyl (1→2)–*O* –*β*–galactopyranosyl (1→2)–*O*–*β*–glucopyranoside
- **2** = kaempférol 3–*O*–*β*–glucopyranosyl (1→2)–*O* –*β*–galactopyranosyl (1→2)–*O*–*β*–glucopyranoside
- **3** = quercétine 3–*O*–(6–féruloyl– *β*–glucopyranosyl) (1→2)–*O* –*β*–galactopyranosyl (1→2)–*O*–*β*–glucopyranoside
- **4** = quercétine 3–glucoside
- **5** = kaempférol 3–glucoside
- **6** = rutine = quercétine 3–rutinoside

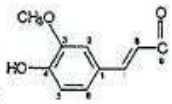
Leurs formules chimiques sont visibles ci-dessous.

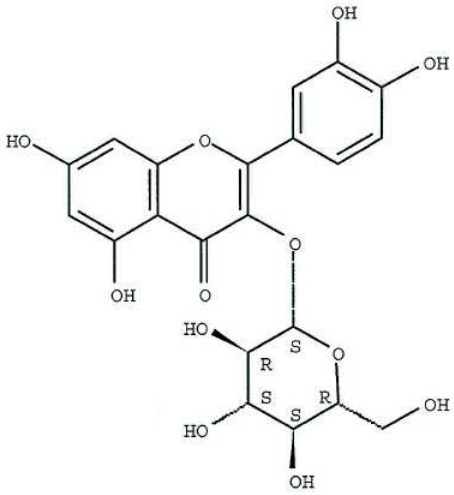
6.1.2. Etude de Singab et al., Egypte,1999 [157]

Un triglycoside de kaempférol a été isolé à partir de l'extrait butanolique des graines de *Nigella sativa* ; il s'agit du :

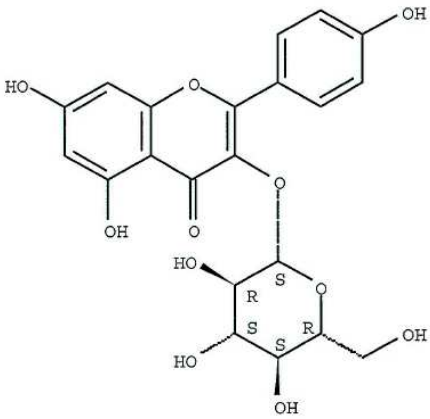
kaempférol 3–*O*– [*β*–D–glucosyl– (1→2) –*O*–*β*–D–glucosyl (1→2)]glucoside



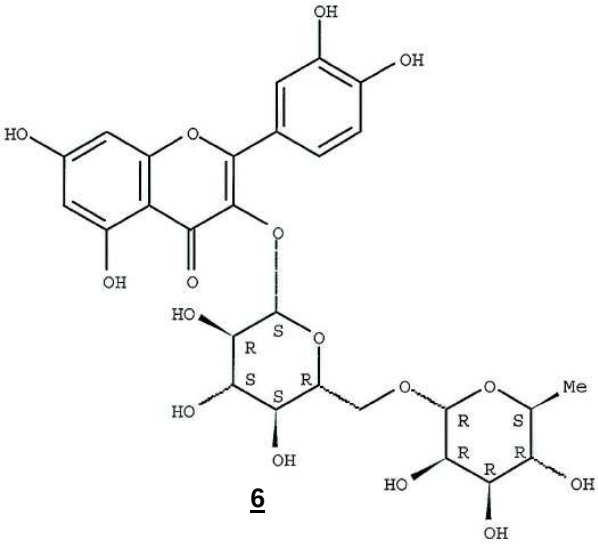
	R	R_1
1	OH	H
2	H	H
3	OH	



4



5



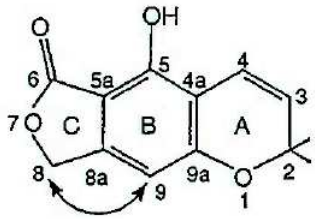
6

6.2 Isobenzofuranone [109]

Un nouveau composé appartenant aux isobenzofuranone a été mis en évidence en Inde en 2001. A partir d'une solution alcaline de graines dégraissées de Nigelle indiennes, on extrait les substances solubles dans l'acide chlorhydrique. Après extraction par le chloroforme et le butanol, la fraction soluble dans le chloroforme est soumise à une chromatographie sur colonne pour révéler le composé pur qui fut ensuite étudié par RMN ^{1}H,^{13}C,1D et 2D.

Il fut identifié comme étant :

5–hydroxy–2,2–diméthyl–2,8–dihydro–6*H*–furo[3,4–*g*]chromèn–6–one de formule :

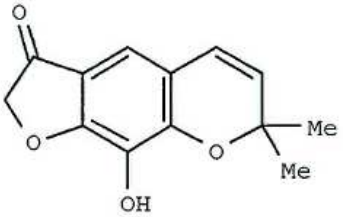


Ce composé est une nouvelle isobenzofuranone jamais isolée auparavant.

6.3 Hydroxyacétophénone [60]

Une nouvelle para-hydroxyacétophénone a été isolée de graines de Nigelle en Egypte en 2001. Elle se caractérise comme suit :

2H–6,7–dihydro–9–hydroxy2,2–diméthyl–6–oxofuro[3,2g]chromène de formule :



7 Conclusion

La chimie de la graine de *Nigella sativa* est remarquable par la présence simultanée d'une huile fixe et d'une huile essentielle.

Voici résumés les points importants de cette composition :

- Une forte teneur en huile grasse (32%) constituée des esters du glycérol, des acides linoléique, oléique et palmitique ; mais aussi de phospholipides, glycolipides, tocophérols, stérols particuliers et surtout de dérivés phénoliques actifs : thymoquinone, thymohydroquinone et thymol.
- La présence d'une huile essentielle (0,4 à 0,5 %) composée majoritairement de monoterpènes. On y trouve aussi le composé actif de l'huile fixe, la thymoquinone et des dérivés soufrés : les disulfides.
- On a pu en outre identifier 12 alcaloïdes de 3 types chimiques différents ; plusieurs saponosides dont l'α-hédérine et des composés phénoliques : hétérosides de flavonol, isobenzofuranone et hydroxyacétophénone.

Les graines de Nigelle contiennent aussi des protéines (20%), des minéraux (fer, zinc, phosphore), des vitamines du groupe B (surtout B1).

Cette richesse chimique laisse présager de nombreuses actions pharmacologiques comme nous allons le voir dans le chapitre suivant.

Précisons la possibilité d'un risque toxique par la présence d'un grand nombre d'alcaloïdes.

Voici un résumé des teneurs des différents extraits de la graine de Nigelle :

- Graine : environ 30% d'huile
environ 0,5% d'huile essentielle
maximum de 0,1% de thymoquinone
- Huile : 0,05 à 0,15% de thymoquinone
- Huile essentielle : 0,6 à 24% de thymoquinone

CHAPITRE 3

PHARMACOLOGIE

1 Action antioxydante

1.1 Les objectifs

Les oxydants sont produits par notre métabolisme anaérobie, leur source est à la fois endogène et exogène. Le stress oxydatif survient lors d'un déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants en faveur des oxydants, générant ainsi des espèces réactives de l'oxygène en excès qui ne peuvent être détruites par la capacité antioxydante de notre système biologique et qui, par leur électron libre s'attaquent aux molécules voisines et endommagent lipides membranaires, protéines, acides nucléiques…

Ils sont impliqués dans la pathogénèse de nombreuses affections humaines comme : l'athérosclérose, le diabète, l'hypertension artérielle, les inflammations, le cancer, et comme nous allons le voir dans la survenue d'effets indésirables lors de la prise de certains médicaments…

Les molécules antioxydantes sont donc mises à profit dans ces pathologies mais aussi dans l'industrie agro-alimentaire, toujours à la recherche de substances naturelles pour prévenir l'auto-oxydation des lipides.

Les graines de *Nigella sativa* ayant traditionnellement été utilisées dans les affections précédemment citées et dans l'alimentation; il était logique de pousser plus loin la recherche d'une éventuelle propriété antioxydante. **[51]**

1.2 Les tests utilisés

Plusieurs tests permettent de mettre en évidence les propriétés anti- ou pro-oxydantes d'un composé ou d'un extrait ainsi que son mode d'action (agent réducteur, piégeur de radicaux libres, agent chélatant de métaux oxydants, suppresseur de la formation de l'oxygène singulet) **[146].**

Voici ceux qui seront utilisés dans les différentes études que nous allons voir :

1.2.1. Le test à la DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) [51]

Ce test est basé sur la capacité de l'échantillon étudié à réduire le radical DPPH en un composé jaune : la diphénylpicrylhydrazine par don d'un proton ou d'un électron. Au bout de 30 minutes d'incubation on mesure au spectrophotomètre l'absorption de l'échantillon à 517nm. Différentes molécules peuvent être utilisées comme témoin positif et on compare les résultats à l'aide de la CI_{50} (concentration inhibant 50% de la réaction).

1.2.2. Le test d'inhibition de la péroxydation lipidique non enzymatique [51]

Pour cela on emploie des liposomes provenant d'extraits de cerveau de bœuf, ou encore des microsomes de foie de rat. En présence de trichlorure de fer ($FeCl_3$) et d'ascorbate il se forme des radicaux hydroxyl ($OH^{\bullet}$) qui, mis en présence des liposomes sont responsables de la péroxydation lipidique. Le test au TBA (acide thiobarbiturique) permet de quantifier l'étendue de la péroxydation car cette molécule, au contact des produits de l'oxydation forme un pigment rose dont on mesure l'absorption à 532nm. On étudie ainsi la capacité de la substance à piéger le radical hydroxyl par comparaison de sa CI_{50} avec celle d'antioxydants de référence.

1.2.3 Le test au désoxyribose [51]

La mise en présence de Fe^{3+} -EDTA avec le péroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'acide ascorbique conduit à la formation de radicaux hydroxyl qui seront détectés par leur aptitude à dégrader le 2-désoxyribose en produits d'oxydation qui seront révélés par le test au TBA vu précédemment.

Les antioxydants vont piéger le radical OH° et prévenir la dégradation du sucre. On compare leur CI_{50} avec celle d'un antioxydant de référence.

1.2.4 Le test déterminant des actions sites-spécifiques [51]

Il est mené comme le test au désoxyribose avec quelques modifications.

a) le fer est apporté sous forme de trichlorure de fer au lieu de fer chélaté à l'EDTA :
Dans ce cas, certains ions Fe^{3+} se lient au désoxyribose. La dégradation du sucre devient

site-spécifique car les radicaux OH° formés par les ions Fe^{3+} attaquent immédiatement le sucre et seuls les composés capables de complexer les ions fer seront susceptibles d'inhiber l'oxydation du désoxyribose. A partir de là on peut déterminer si la substance étudiée a un pouvoir antioxydant par chélation de métaux oxydants.

b) l'ascorbate est omis :
L'aptitude de la substance à réduire l'EDTA ferrique peut être mesurée, car sans ascorbate, seul un faible taux de radicaux OH° seront générés et l'on pourra observer une éventuelle capacité directement pro-oxydante de la substance vis à vis du sucre. Dans ce cas, l'absorption augmentera car un plus grand nombre de produits de dégradation seront engendrés.

c) le désoxyribose est omis :
Seule la substance étudiée sera susceptible de réagir directement avec les radicaux OH° pour former des produits de dégradation (aldéhydes par exemple).

1.2.5 Le test à la bléomycine [35]

Les composés inhibant la péroxydation lipidique peuvent être des agents pro-oxydants pour d'autres molécules comme les hydrates de carbone, les protéines ou les acides nucléiques.

Ce test permet de mesurer la capacité pro-oxydante d'une molécule vis à vis de l'ADN.

1.2.6 Étude de l'action antioxydante envers une émulsion β-carotène/acide linoléique [23]

L'effet antioxydant sera mesuré par l'aptitude de la molécule à inhiber la dégradation du β-carotène dans une émulsion β-carotène/acide linoléique.

1.2.7 Mesure de la capacité à piéger l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ [35]

La production d'anion superoxyde est réalisée grâce au système hypoxanthine/xanthine oxydase. Il mesure la capacité des antioxydants à réagir avec $O_2^{\bullet-}$. Les substances sont comparées par leur CI_{50}.

1.2.8 Mesure de la capacité à prévenir l'auto-oxydation d'une huile végétale [23]

L'extrait testé est mélangé à l'huile et chauffé pour créer une auto-oxydation qui est évaluée par l'indice de péroxydation et d'anisidine et comparée à celle d'un témoin positif.

1.3 Les résultats

1.3.1 Extraits aqueux et alcoolique

- **Objectifs**

Atta et Imaizumi, en 1998 **[23]** ont étudié le comportement des extraits dégraissés éthanoliques et aqueux de graines de Nigelle et de plante de Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.). Ceci a été réalisé dans le but de trouver des antioxydants naturels comme alternative aux molécules de synthèse utilisées dans l'industrie, pour prévenir l'oxydation des lipides alimentaires.
L'oxydation lipidique des aliments riches en matières grasses est un problème majeur dans l'industrie agroalimentaire car elle modifie le goût, l'odeur, la couleur, la valeur nutritionnelle et elle limite la durée de conservation de l'aliment.
D'autre part l'innocuité de l'utilisation de molécules antioxydantes de synthèse est parfois contestée car elles peuvent se comporter comme des pro-oxydants.

- **Les tests utilisés**
  - Action antioxydante envers une émulsion β-carotène/acide linoléique
  - Mesure de la capacité à prévenir l'auto-oxydation d'une huile de maïs

Le témoin positif est la tertio-butylhydroquinone (TBHQ), une quinone antioxydante de synthèse, de structure et d'action biologique proche de la TQ.

- **Les résultats**

Les capacités antioxydantes des extraits éthanoliques sont supérieures à celles des extraits aqueux. L'effet antioxydant de l'extrait éthanolique de graines de Nigelle est supérieur à celui du romarin et équivalent à celui du TBHQ.

- **Discussion**

L'extrait éthanolique de graines de Nigelle est un très bon antioxydant, aussi puissant que la TBHQ et pouvant être utilisé pour prévenir l'auto-oxydation de l'huile de maïs.
Les auteurs suggèrent d'utiliser la poudre cryobroyée de cet extrait pour la disperser par sonification dans l'huile de maïs à la dose de 100 ppm ; ce qui ne modifierait pas les propriétés organoleptiques de l'huile végétale et permettrait de prévenir l'auto-oxydation des lipides.

Malheureusement, l'étude de la composition de cet extrait éthanolique n'a pas été réalisée et nous ne pouvons que faire des suppositions quant aux molécules responsables de l'activité antioxydante. Les couleurs des solutions ont été estimées visuellement auparavant et selon les auteurs, celle brun doré de l'extrait alcoolique révélait la présence de composés phénoliques et de pigments flavoniques (contrairement à l'extrait aqueux grisâtre).

Nous pouvons penser que l'éthanol permet d'extraire une partie de la TQ, des composés polyphénoliques et des pigments flavoniques participant à l'activité antioxydante ; et peut être aussi une partie de l'HE (nous verrons plus loin qu'elle est également antioxydante) puisque le degré alcoolique de l'extrait est de 80°.
Une étude de la composition de l'extrait éthanolique et aqueux de graines de nigelle permettrait de compléter cette étude.

1.3.2 Thymoquinone

- **Objectifs**

Les travaux réalisés par Badary et *al.* en Egypte en 2003 **[35]** reposent tout particulièrement sur la recherche de l'activité antioxydante et non pro-oxydante de la TQ.

- **Les tests utilisés**
  - Inhibition de la péroxydation lipidique (témoin positif : la TBHQ)
  - Test à la DDPH (témoins positifs : l'acide ascorbique et le butylhydroxytoluène : BHT)
  - Test au désoxyribose (témoin positif : TBHQ et catéchine)
  - Test de site-spécifique au désoxyribose (témoin positif : TBHQ et catéchine)
  - Production d'anion superoxyde par le système hypoxanthine/xanthine oxydase (témoin positif : le TBHQ)
  - Test à la bléomycine (témoin positif: le TBHQ)

- **Résultats**
  - <u>Inhibition de la péroxydation lipidique</u> :
    TQ: CI_{50} de 16,8 µM
    TBHQ: CI_{50} de 14,9 µM
    Nous observons une action équivalente et puissamment inhibitrice des 2 molécules.
    L'effet est dose-dépendant.
  - <u>Test à la DPPH</u> :
    TQ : CI_{50} de 1mM
    TBHQ : CI_{50} de 5 µM
    Acide ascorbique : CI_{50} de 20 µM
    BHT: CI_{50} de 50 µM
    Ici l'effet de la TQ est très inférieur (de 20 à 50 fois) à celui des témoins positifs.
  - <u>Test au désoxyribose</u> :
    TQ : CI_{50} de 44,3 µM
    TBHQ : CI_{50} de 4,6 µM
    Catéchine : CI_{50} de 18,3 µM
    Ici également, la TQ est moins active que les témoins positifs (de 2,5 à 10 fois moins).
  - <u>Test de site-spécifique au désoxyribose</u> :
    Aucun des 2 composés n'est capable de complexer le fer ; ils ne forment pas de produits de dégradation quand le désoxyribose est omis et enfin pas d'action pro-oxydante vis à vis des sucres.

- Production d'anion superoxyde par le système hypoxanthine/xanthine oxydase :
  Elle est efficacement inhibée par la TQ de façon dose-dépendante avec un effet supérieur à celui de la TBHQ.
  TQ : CI_{50} de 3,35 µM
  TBHQ : CI_{50} de 18,1 µM
  Les 2 molécules n'agissent pas par inhibition de l'activité de la xanthine oxydase, car à leur CI_{50}, elles ne purent diminuer la formation d'urate par l'enzyme.

- Test à la bléomycine :
  Il confirme une forte action pro-oxydante de la TBHQ, 8 fois supérieure à celle de la TQ qui, en dessous de la concentration de 200 µM n'est pas pro-oxydante vis à vis de l'ADN.

- **Discussion**

La TQ et la TBHQ ont une action antioxydante puissante ; elles inhibent la péroxydation lipidique de façon comparable.

La TQ est particulièrement puissante pour piéger l'anion superoxyde (effet supérieur à celui de la TBHQ). Cet anion a une réactivité propre qui est faible mais il est considéré comme un important initiateur de péroxydation lipidique car il est le précurseur de radical hydroxyl fortement réactif. Dans cette activité, la TQ et la TBHQ se comportent comme des substances SOD-like ; la SOD étant une enzyme clef dans la catalyse de l'anion superoxyde en péroxyde d'hydrogène et en oxygène.

L'activité antioxydante de la TQ s'exerce donc par son aptitude à donner un proton ou un électron, par piégeage de radicaux libres et non en complexant des métaux pro-oxydants comme l'a montré le test de spécificité de site. D'autre part la TQ n'a pas montré d'action pro-oxydante vis à vis des sucres et de l'ADN (pas en dessous de 200 µM) alors que la TBHQ se révélait être pro-oxydante dans le test à la bléomycine (vis à vis de l'ADN).

1.3.3 L'huile

- **Objectifs**

L'huile de Nigelle étant commercialisée, il était intéressant de voir si ses effets antioxydants pouvaient être aussi importants que ceux de la TQ.
En 1995 **[100]** les auteurs Houghton et *al.* comparèrent ces 2 extraits.

- **Test utilisé**

L'inhibition de la péroxydation lipidique non enzymatique (sur des liposomes de cerveau de bovin)

- **Résultats**

L'huile montra une inhibition dose-dépendante de la péroxydation lipidique avec une activité 10 fois inférieure à celle de la TQ.

- **Discussion**

La concentration moyenne en TQ dans les échantillons d'huile étant de 0,15% nous pouvons dire que l'activité antioxydante de l'huile est supérieure à celle attendue d'après sa teneur en TQ ; donc d'autres composants de l'huile doivent certainement participer à ses propriétés antioxydantes ; ceux-ci pourraient exercer une synergie avec la TQ et augmenter ainsi le pouvoir de l'huile.

En 2003 en Allemagne **[146]**, Ramadan et *al.* montraient que chaque composant d'une huile pris individuellement ne peut expliquer à lui seul l'activité piégeur de radicaux libres et que celle-ci est due à une action combinée de plusieurs antioxydants endogènes comme les phospholipides, les stérols, la fraction insaponifiable…Ainsi, le taux de lipides polaires (notamment les phospholipides, beaucoup plus antioxydants que les glycolipides), l'indice de péroxydation initial, la présence de tocophérols et de certains phénols ainsi que le taux d'acides gras polyinsaturés (AGPI) affecteront cette activité.

1.3.4 L'huile essentielle

- **Objectifs**

En 2000 en Autriche **[51],** les auteurs Burits et Bucar ont montré que l'action antioxydante de l'HE de graines de Nigelle n'était pas due à la seule action de la TQ.
Pour cela ils ont observé le comportement antioxydant des HE extraites de 7 échantillons de Nigelle de provenances géographiques inconnues.
L'analyse montra des différences quantitatives de la composition des HE, par contre l'analyse qualitative révélait les mêmes composants majoritaires à savoir : la TQ puis le p-cymène, le carvacrol, le 4-terpinéol et le trans-anéthol.

Un rapide screening pour déterminer les molécules antioxydantes présentes dans l'HE révéla 4 composants : carvacrol, TQ, trans-anéthol et 4-terpinéol.

- **Tests utilisés**
  - Test au DPPH : témoin positif le BHT
  - Test d'inhibition de la péroxydation lipidique : témoin positif la quercétine
  - Test au désoxyribose : témoin positif la quercétine
  - Test de site spécifique : témoin positif la quercétine et le BHT

- **Résultats**
  - Test au DPPH :
    Tous purent réduire le radical DPPH en diphénylhydrazine avec :
    BHT: CI_{50} de 12,12 µg/ml
    Carvacrol : CI_{50} de 28 µg/ml
    TQ : CI_{50} de 211 µg/ml
    HE: CI_{50} de 460 µg/ml
    Les deux autres composés (4-terpinéol et trans-anéthol) ne purent inhiber 50% de la réaction sous les conditions de ce test, le facteur limite étant le volume des échantillons testés : 50 µl.
    Nous obtenons donc une faible activité de la TQ et de l'HE par rapport au témoin positif (200 et 400 fois moins actif), alors que le carvacrol est seulement 2 fois moins actif que le BHT.

  - Test d'inhibition de la péroxydation lipidique :
    HE: CI_{50} de 0,0011 µg/ml
    TQ : CI_{50} de 1,84 µg/ml
    Carvacrol : CI_{50} de 9,3 µg/ml
    Quercétine: CI_{50} de 1,84 µg/ml
    L'effet sur la péroxydation lipidique de l'HE est très supérieur à celui de la TQ ; cependant, la TQ agit de façon comparable au témoin positif.

  - Test au désoxyribose :
    Activité antioxydante supérieure du carvacrol : CI_{50} : 21 µg/ml

  - Test de site-spécifique :
    Il ne montra aucune action pro-oxydante des composés testés vis à vis des sucres, aucune action chélatrice du fer et pas de formation de produits de dégradation de type aldéhydique.

- **Discussion**

En conclusion, l'HE a une activité antioxydante particulièrement puissante pour inhiber la péroxydation lipidique, supérieure à la TQ.
Elle exerce également son effet antioxydant par piégeage du radical hydroxyl et par don d'électron ou de proton, mais dans ce cas son action est moindre que celle de la TQ ou du carvacrol.
Donc l'HE comporte d'autres molécules antioxydantes que la TQ à savoir le carvacrol essentiellement, mais il ne faut pas négliger non plus la présence de 4-terpinéol et de trans-anéthol.
Ni l'HE, ni les composés étudiés ne montrèrent d'action pro-oxydante vis à vis des sucres, mais il serait nécessaire de compléter ces résultats par le test à la bléomycine qui mesure l'action pro-oxydante envers l'ADN. En effet, une molécule n'ayant pas la capacité de dégrader les sucres peut se montrer pro-oxydante vis à vis de l'ADN.
Ici encore, l'addition des effets antioxydants des 4 molécules ne peut expliquer la puissante action de l'HE elle même. Nous pouvons donc supposer que d'autres composés non détectés peuvent jouer le rôle d'antioxydants et que certainement il existe une synergie d'action.

1.3.5 Conclusion

Les différentes études *in vitro* mettent en évidence une action antioxydante de l'extrait alcoolique de graines de Nigelle, de l'huile et de l'huile essentielle et de la TQ extraites des mêmes graines.
L'huile, l'huile essentielle et la TQ exercent leurs actions antioxydantes de la façon suivante :

- Inhibition de la péroxydation lipidique
- Piégeage du radical hydroxyl
- Donneur de proton ou d'électron
- Incapacité à complexer les métaux pro-oxydants pour la TQ et huile
- Pas d'effet pro-oxydant vis à vis des sucres, ni vis à vis de l' ADN en ce qui concerne la TQ (ceci resterait à vérifier pour l'huile essentielle et l'huile par le test à la bléomycine)
- Puissant piégeur de l'anion superoxyde pour la TQ.

Pour l'huile : d'autres molécules comme les phospholipides et autres lipides polaires, les stérols, certains phénols et les tocophérols pourraient agir de façon synergique avec la TQ pour augmenter le pouvoir antioxydant de l'huile.

Pour l'huile essentielle également, les 4 molécules antioxydantes identifiées (TQ, carvacrol, anéthol et 4-terpinéol) semblent agir en synergie, seules ou avec d'autres molécules antiradicalaires présentes dans l'huile essentielle et non révélées par cette étude.

L'extrait éthanolique dégraissé de graines de Nigelle quant à lui, a été étudié dans la perspective d'être substitué aux antioxydants de synthèse utilisés dans l'industrie agroalimentaire, ceux-ci étant parfois controversés.
L'extrait éthanolique a révélé une activité antioxydante nette et supérieure à celle de l'extrait aqueux.

Concernant l'inhibition de la péroxydation lipidique, l'HE est la plus active (1000 fois plus que la TQ) puis vient la TQ et l'huile (10 fois moins active que la TQ).
L'huile et les graines qui nous intéressent ici ont donc une activité antioxydante certaine mais inférieure à celle de la TQ et de l'HE.
Il convient d'attirer l'attention sur le fait que ces résultats sont obtenus *in vitro* seulement. Leur intérêt réside dans le fait qu'ils permettent ainsi de rechercher directement l'activité antioxydante ou pro-oxydante des composés ou des extraits *in vivo* pour corréler les résultats observés dans les deux cas.

1.4 Applications

La graine de Nigelle a été utilisée dans différentes applications où ses propriétés antiradicalaires peuvent être mises à profit ; notamment lors de la prise de médicaments où le but est de trouver des substances limitant les effets indésirables qui découlent du stress oxydatif causé par les molécules administrées, et pouvoir ainsi sécuriser et élargir la prescription thérapeutique.

1.4.1 Vieillissement des fonctions hépatiques et rénales

L'objectif est de montrer que l'administration par voie orale (v.o.) d'une huile de Nigelle à des rats adultes et séniles est une bonne prévention du vieillissement des fonctions rénales par un mécanisme d'action antioxydant principalement. (**[37]** 1996).
Le vieillissement est dû en général aux radicaux libres et à la baisse de concentration dans le sang du glutathion réduit (GSH), principal agent cellulaire de défense antiradicalaire.

1.4.1.1 Protocole

Des rats adultes et séniles reçoivent par v.o. : 2,7 g/kg/jour d'huile pendant 4 semaines.
Sont évalués au bout de 2 et 4 semaines : les changements histologiques dans les tissus rénaux et hépatiques et les modifications biochimiques ; ainsi que la teneur en ADN cellulaire des organes étudiés.

Le vieillissement provoque une chélation de l'ADN sous l'effet des radicaux libres et les liaisons hydrogène faibles sont alors remplacées par des liaisons fortes, empêchant ainsi le déroulement des chaînes d'ADN. Ainsi le taux cellulaire d'ADN augmente.

1.4.1.2 Résultats

- Le vieillissement provoque chez le rat sénile (par rapport au rat adulte) :
  - une baisse du GSH et de la créatinine sérique ($P \leq 0,01$)
  - une élévation des taux sériques de cholestérol et de γ-glutamyl-transférase (γ –GT) ($P \leq 0,05$)
  - une élévation des taux sériques d'urée et d'acide urique ($P \leq 0,01$)

  Le taux de transaminases n'est pas modifié, ni celui de la phosphatase alcaline.
- L'huile entraîne chez le rat adulte par rapport au groupe contrôle non traité :
  Une baisse significative des taux sériques de cholestérol ($P \leq 0,05$), de γ –GT et d'urée ($P \leq 0,01$)
- Chez le rat sénile, l'huile provoque, par rapport au groupe contrôle non traité :
  - une baisse de cholestérol, de γ –GT, d'urée, d'acide urique et d'aspartate aminotransférase avec $P \leq 0,01$.
  - une baisse de la teneur en ADN cellulaire hépatique et rénal significative avec $P \leq 0,01$.
  - une nette diminution de toutes les modifications tissulaires (restauration de la taille des hépatocytes et du glomérule rénal, décongestion des vaisseaux sanguins du glomérule…) confirmée par l'étude histologique

1.4.1.3 Discussion

La baisse des taux de γ-GT et d'AST indique un meilleur fonctionnement hépatique et celle de l'acide urique et de l'urée, une meilleure filtration glomérulaire.
Le fait que l'ingestion d'huile de Nigelle chez les rats sénescents abaisse la teneur en ADN cellulaire confirme l'implication d'un mécanisme antioxydant dans la prévention du vieillissement tissulaire.
L'huile de Nigelle peut donc permettre de retarder certains phénomènes de vieillissement chez le rat.

1.4.2 Hépatoprotection

1.4.2.1 Les tests utilisés

Les différents tests visent à détruire les cellules hépatiques par un agent chimique et observer ensuite le pouvoir hépatoprotecteur de l'extrait de Nigelle en traitement curatif ou préventif par des études histopathologiques ou par dosage de paramètres biochimiques.

Dosages sériques:

- transaminases sériques : alanine aminotransférase (ALT) et aspartate aminotransférase (AST) : leur élévation signe une souffrance hépatique.
- γ-GT : idem
- phosphatase alcaline (PA) : son activité augmente en cas de cholestase ou de pathologie hépatocellulaire chronique.
- lactate déshydrogénase (LDH) : elle n'est pas spécifique du foie mais son activité augmente lorsqu'il est atteint.
- bilirubine totale : sa teneur dans le sang augmente en cas de problème hépatique car elle est conjuguée dans le foie et éliminée par la bile.
- activité prothrombique : la prothrombine est un facteur de la coagulation synthétisé dans le foie.

Dosages hépatiques:

- malondialdéhyde (MDA) : mesure la péroxydation lipidique
- glutathion réduit (GSH) : évalue le statut en antioxydants hépatiques

- **Test au paracétamol [98]**
  L'injection i.p. de paracétamol à des rats *in vivo* induit une nécrose hépatique qui se traduit par une élévation dans le sérum de AST, ALT et une baisse du GSH hépatique.
  Ce test met en évidence la capacité du composé à prévenir la déplétion en GSH et la péroxydation lipidique.
  Produit testé :
  L'huile de Nigelle par v.o. (1,125 g/kg) après injection de paracétamol.
  Témoins positifs : vitamines C et E, fructose et un cocktail fructose/cyclosporine A/trifluopérazine.

- **Test au tertiobutyl hydropéroxyde (TBHP) [59]**
  Le TBHP est utilisé pour créer des lésions oxydatives et une déplétion rapide en GSH intracellulaire qui est l'événement initiateur de la toxicité pour aboutir à la rupture du cytosquelette membranaire.
  In vitro, l'hépatotoxicité se traduit par une perte de viabilité cellulaire avec fuite des transaminases ALT et AST dans le milieu d'incubation et déplétion en GSH intracellulaire.
  Ces 3 paramètres permettent de mesurer le maintien ou non de l'intégrité membranaire des hépatocytes.
  Le test mettra en évidence la capacité à préserver le GSH intracellulaire.
  Produit testé :
  La TQ sur les hépatocytes isolés de rat en pré-incubation avant le TBHP.
  Témoin positif : la sylibine, agent hépatoprotecteur connu.

- **Test au tétrachlorure de carbone (CCl_4)**
  Le CCl_4 administré à des rongeurs est métabolisé dans le foie en radical libre trichlorométhyl ($CCl_3^{\bullet}$) qui réagit avec l'oxygène pour conduire au radic al trichlorométhylpéroxyl ($CCl_3OO^{\bullet}$), celui-ci entraîne une destruction de la membrane cellulaire, une nécrose centrilobulaire et une dégénération lipidique.
  Les 2 points importants de la survenue des lésions hépatiques sont la génération de radicaux libres et l'altération de l'homéostasie calcique (par altération des protéines responsables du transport trans-membranaire du calcium).
  L'événement premier est la péroxydation lipidique**. [66] [126]**

Du point de vue biochimique, cela se traduit par une élévation de la concentration des transaminases, de la LDH et de la PA dans le sérum ; par une déplétion en GSH hépatique et par une augmentation du MDA dans le foie.
L'effet hépatoprotecteur des produits testés (huile, HE, TQ) mettra en évidence leur capacité à inhiber la péroxydation lipidique, à piéger les radicaux libres, voire, à diminuer l'influx intracellulaire du calcium.

- **Test à la D-galactosamine (DG) [66]**
  La DG en injection intra-péritonéale (i.p.) crée chez le rat une altération de la membrane cellulaire hépatique avec élévation des transaminases sériques et de la PA.
  Produit testé : l'huile par v.o. chez le rat.

1.4.2.2 Résultats

❖ **L'huile**

- **Test au paracétamol**
  Lors de cette étude réalisée par Hassan et *al.* en Egypte en 1998 **[98]**, l'huile de Nigelle par v.o., les vitamines et le cocktail restaurent les paramètres biochimiques de façon comparable alors que le fructose ne propose qu'une protection partielle.
  Il avait déjà été montré que l'administration de certains antioxydants comme la méthionine et la N-acétylcystéine à forte dose avait pu efficacement prévenir les lésions hépatiques dues au paracétamol.
  Donc l'huile exerce *in vivo* un effet hépatoprotecteur par action antioxydante (comme les vit. C et E), par préservation du GSH intracellulaire et par inhibition de la péroxydation lipidique.

- **Test au tétrachlorure de carbone**
  Une étude histologique chez le rat (**[164]** 2003) montre que l'huile par v.o., associée à l'injection de CCl_4 réduit les lésions à seulement quelques nécroses éparses alors que le CCl_4 seul en i.p. induisait une nécrose et une fibrose sévère.
  L'huile par V.O. chez le rat (**[66]** 2000) n'exerce qu'une protection partielle de l'hépatotoxicité due au CCl_4 injecté en sous-cutané.
  Ces 2 études n'ont pas été menées par rapport à un témoin positif.

- **Test à la D-galactosamine**
  Dans la même étude **[66]**, l'huile par v.o. restaure tous les paramètres et offre une hépatoprotection totale.

➢ Il a été montré en 2003 l'effet régénérateur hépatique de l'administration d'une émulsion de lipides à des rats intoxiqués à la D-galactosamine. Donc l'hépatoprotection totale de l'huile de Nigelle aux doses testées s'explique à la fois par sa teneur en TQ et en lipides. **[83]**
Les 2 autres tests montrent un effet hépatoprotecteur *in vivo* dû à l'action antioxydante de l'huile par inhibition de la péroxydation lipidique, préservation GSH intracellulaire et piégeage de radicaux libres.

❖ **Huile essentielle**

- **Test au tétrachlorure de carbone**
  Lors de leur étude histologique chez le rat, Tûrkdogan et *al.* **[164]** montraient l'hépatoprotection apportée par l'HE par v.o. avec comme pour l'huile, seulement quelques nécroses éparses.
  Deux composés principaux de l'HE de graines de Nigelle : l'α-pinène et la para-cymène n'ont apporté aucune amélioration de l'hépatotoxicité lors de leur administration à différentes doses i.p. avant l'injection i.p. de CCl_4 chez la souris ; ces 2 composés n'ont pas de propriété antioxydante majeure. **[126]**

➢ Ceci met en évidence un effet hépatoprotecteur *in vivo* par inhibition de la péroxydation lipidique et piégeage de radicaux libres.

❖ **Thymoquinone**

- **Test au tertiobutyl hydropéroxyde**
  Les auteurs Daba et *al.* aux USA en 1998 **[59]** montrent que la pré-incubation d'hépatocytes avec la TQ diminue très significativement l'hépatotoxicité. (confère ***tableau 18***)
  La TQ réduit nettement la fuite des transaminases, et son action principale est la prévention de la déplétion en GSH où elle est aussi active que la sylibine.

La pré-incubation des hépatocytes avec la TQ permet de retrouver une bonne viabilité cellulaire au bout de 120 minutes ; toutefois l'action de la sylibine est supérieure.
La TQ, en prévenant la déplétion en GSH, diminue le stress oxydatif causé par le TBHP et limite la cytotoxicité.

Tableau 18 *: Effets de la thymoquinone et de la sylibine sur les transaminases et le glutathion réduit (en nmol/mg de protéine) d'hépatocytes isolés de rats au bout de 120 minutes.* ***[59]***

groupes	% de fuite en ALT	% de fuite en AST	teneur en GSH
contrôle	46,1 ± 0,6	24,8 ± 0,7	6,19 ± 0,20
TBHP	82,6 ± 1,9*	62,6 ± 1,1***	2,03 ± 0,10***
Sylibine	45,4 ± 1,4	22,7 ± 1,1	5,31 ± 0,30
TQ	50,5 ± 1,4	23,8 ± 1,0	5,36 ± 0,40
Sylibine+TQ	54,2 ± 1,5**	25,1 ± 1,7**	4,28 ± 0,20**
TQ+TBHP	62,1 ± 0,8**	33,5 ± 0,7**	4,10 ± 0,20**

* et *** : significativement différents du groupe contrôle avec P<0,001 et P<0,05 respectivement
** : significativement différent du groupe TBHP avec P<0,05

- **Test au tétrachlorure de carbone**
  L'effet de l'administration préventive ou concomitante de TQ avec le CCl_4 chez la souris a été observé dans les études suivantes :
  - **[10]** Al-Gharaby et *al.* en 1997 en Arabie
  - **[137]** Nagi et *al.* en 1999 en Arabie
  - **[125]** Mansour en 2000 en Arabie
  - **[126]** Mansour et *al.* en 2001 en Arabie

  Que la TQ soit administrée par v.o. ou i.p., en préventif ou en curatif, elle améliore dans tous les cas les paramètres étudiés et l'histopathologie par rapport au groupe non traité. **[10]**
  Par v.o., la TQ agirait également par l'intermédiaire de son métabolite : la dihydrothymoquinone, qui elle même inhibe fortement la péroxydation lipidique. La DT-diaphorase réduit les quinones dans le foie et permet leur élimination. La dihydrothymoquinone est 2 fois plus active que la TQ pour inhiber la péroxydation lipidique. (**[137]** 1999)

  Néanmoins, d'après les différents travaux, l'action hépatoprotectrice optimale semble être obtenue par injection i.p. de 12,5 mg/kg de TQ une heure avant l'injection de CCl_4 en i.p. (15 µL/kg), ce qui restaure les taux de GSH et MDA hépatiques et diminue nettement l'activité des transaminases. **[126]** (confère ***tableau 19***)

Tableau 19 : *Effets sur différents paramètres, de la thymoquinone (12,5 mg/kg en i.p.) administrée à des souris 1heure avant injection i.p. de CCl_4 (15 µL/kg).* ***[126]***

traitement	ALT (UI/ml)	AST (UI/ml)	GSH (µM/g de foie)	MDA (nM/g de foie)
contrôle	19,80 ± 1,65	219,00 ± 10,77	8,10 ± 0,45	138,0 ± 11,4
TQ	18,40 ± 3,30	260,00 ± 18,10	8,70 ± 0,34	145,0 ± 11,9
CCl4	695,00 ± 40,84*	725,00 ± 16,50*	4,70 ± 0,75*	667,0 ± 162,0*
TQ+CCl4	56,25 ± 10,23**	373,00 ± 86,10**	8,80 ± 0,84**	172,0 ± 28,0**

Les résultats représentent la moyenne ± SE (n=5)
*** :** significativement différent du groupe contrôle avec P<0,05
** **:** significativement différent du groupe traité par CCl_4 avec P<0,05

- Ces tests confirment chez la souris l'effet inhibiteur de la péroxydation lipidique et piégeur de radicaux libres de la TQ et leur intérêt comme hépatoprotecteur lors de lésions oxydatives.
  Nous ne pouvons écarter l'éventualité d'une implication de mécanismes complémentaires (voir ci-dessous).

1.4.2.3 Discussion

Les 3 principes les plus antioxydants de la graine de Nigelle (la TQ, l'HE et l'huile) ont une forte action hépatoprotectrice vis à vis du stress oxydatif occasionné par différentes substances.
L'évènement commun et principal est la péroxydation lipidique : facteur initiateur de la lésion.

Donc l'effet antioxydant reste le mécanisme d'action prépondérant de la graine de Nigelle en aidant à maintenir l'intégrité des membranes hépatocytaires, que ce soit en piégeant les radicaux libres, en préservant le glutathion réduit intracellulaire ou en inhibant la péroxydation lipidique.
2 mécanismes complémentaires peuvent intervenir :

- La baisse du calcium intracellulaire par la nigellone (dithymoquinone) montré par Chakravarty (**[53]** 1993) probablement en inhibant la protéine kinase C.
- L'inhibition de la production de tromboxane B_2 (TxB_2) par la TQ, par inhibition de la cyclo-oxygénase. Or une augmentation de production de TxB_2 contribue à la formation d'une vésicule de la membrane plasmique de l'hépatocyte (dissociation de la bicouche lipidique membranaire du cytosquelette sous-jacent) et ce phénomène serait aussi un des évènements initiaux survenant dans la lésion de l'hépatocyte suite à un stress oxydatif. (**[100]** 1995)

Ces actions combinées permettraient à la cellule de résister à l'augmentation de l'influx calcique et à la destruction de la membrane cellulaire.

Les actions des différents extraits n'ont pas été comparées.
L'étude histopathologique **[164]** montrant l'effet hépatoprotecteur de l'huile et de l'HE ne montre pas de différences significatives dans l'activité de ces 2 substances.

1.4.3 Néphroprotection

Le but de ces études *in vivo* est de trouver une substance pouvant limiter la néphrotoxicité de différents médicaments anticancéreux et antibiotiques.
Cette néphrotoxicité entraîne une altération des structures rénales avec mauvaise filtration glomérulaire. La principale manifestation est la baisse de la clairance à la créatinine mais d'autres paramètres biochimiques sont modifiés:

- Dans le sang : augmentation des concentrations en créatinine, urée et baisse de celles en albumine et protéines.
- Dans les urines : augmentation de l'excrétion urinaire en protéine, albumine, sucres et électrolytes.

Les lésions rénales sont générées par le stress oxydatif et entraîneront une péroxydation lipidique avec baisse du statut en antioxydants dans le cortex rénal.
L'amélioration de ces paramètres et de l'histopathologie permettra d'évaluer l'effet néphroprotecteur de la Nigelle lors de son association aux molécules médicamenteuses.

1.4.3.1 Protocoles expérimentaux

- **Médicaments anticancéreux**

  - **Ifosfamide (IFO)** (**[29]** 1999)
    Sa néphrotoxicité se manifeste entre autres par un syndrome de Fanconi : trouble de la réabsorption du tubule rénal proximal avec fuite des électrolytes, du glucose et des acides organiques. Le mécanisme est mal connu mais la toxicité à l'IFO a pu être associée à la déplétion en GSH rénal et à l'accumulation en MDA (péroxydation lipidique).
    <u>Produit testé :</u>
    La TQ par administration par v.o. à des souris (5 mg/kg/jour), 5 jours avant et 5 jours pendant l'injection i.p. quotidienne de IFO (50 mg/kg).

  - **Doxorubicine (ou adriamycine)**
    Ses effets indésirables sont une néphrotoxicité et une cardiotoxicité.
    La DOX est transformée en un radical semiquinone qui réduit l'oxygène pour produire le superoxyde et régénérer la DOX. La formation du radical superoxyde initie une réaction radicalaire en chaîne qui détériore les membranes cellulaires. **[138]**
    Cela se traduit au niveau rénal par une perméabilité des parois glomérulaires avec hyperlipidémie, péroxydation lipidique, protéinurie, albuminurie et perte du statut en antioxydant rénaux.

Produit testé :
La TQ par v.o. à des rats (dose de 10 mg/kg/jour) pendant 5 jours avant et un jour pendant l'injection intra veineuse (i.v.) de DOX (6 mg/kg). (**[30]** 2002)

– **Cisplatine**
Sa toxicité rénale et son action myélosuppressive seraient liées à une libération de radicaux libres de l'oxygène avec péroxydation lipidique et perturbation de l'homéostasie calcique.
Action de l'extrait éthanolique :
Cet extrait éthanolique est concentré en principe actif par chromatographie (éluant : méthanol/eau 9 :1). Il est administré par v.o. à des souris (50mg/kg), 30 minutes avant l'injection i.p. de cisplatine (2 mg/kg) pendant 10 jours, 1 jour sur 2. (**[139]** 1991)
Action de la thymoquinone :
La TQ est donnée par v.o. à des rats (8 mg/kg/jour) et à des souris (4 mg/kg/jour) 5 jours avant et 5 jours après l'injection de cisplatine en i.v. aux rats (5 mg/kg) et en i.p. aux souris (7 et 14 mg/kg). (**[34]**1997)

- **Médicament antibiotique : la gentamicine**

La gentamicine (GM) est connue pour être néphrotoxique par production de radicaux libres ; d'ailleurs différents piégeurs de radicaux libres ont permis d'atténuer sa toxicité.
Action des graines broyées :
Elles sont données par v.o. à des rats (2 mg/kg) parallèlement à l'injection i.p. de GM (30 mg/kg) pendant 15 jours. (**[81]** 1997)
Action de l'huile :
Différentes doses orales d'huile sont données à des rats (0,5 ; 1 et 2 ml/kg) 4 jours avant et pendant les 6 jours de traitement par GM (injection intra-musculaire, i.m. 80 mg/kg/jour). (**[11]** 2004)

1.4.3.2 Résultats

- **Ifosfamide**

L'administration de la TQ diminue nettement la susceptibilité rénale des souris à l'IFO, par prévention de la péroxydation lipidique et préservation du GSH rénal ; ce qui diminue la fuite urinaire des électrolytes, du glucose et des acides organiques et améliore la filtration glomérulaire. **[29]** (voir ***tableau 20***)

Tableau 20 : *Effet de l'ifosfamide et/ou de la thymoquinone sur quelques paramètres biochimiques.* ***[29]***

paramètres	sol.saline	TQ	IFO	TQ+IFO
clair.créat. (ml/min)	0,60 ± 0,04	0,69 ± 0,07	0,27 ± 0,03^{ab}	0,50 ± 0,04^{c}
FE Na (%)	0,35 ± 0,03	0,38 ± 0,04	7,20 ± 1,00^{ab}	3,00 ± 0,40^{abc}
FE K (%)	35,00 ± 3,00	33,00 ± 2,70	65,0 ± 8,00^{ab}	40,0 ± 5,10^{c}
FE PO4 (%)	3,00 ± 0,02	3,20 ± 0,33	30,00 ± 4,00^{bc}	9,00 ± 2,00^{c}
FE glucose (%)	0,09 ± 0,40	0,08 ± 0,01	0,40 ± 0,06^{ab}	0,17 ± 0,01^{c}
EU lactate (µM/h)	1,30 ± 0,20	1,20 ± 0,20	4,00 ± 0,50^{ab}	2,50 ± 0,30^{c}
EU pyruvate (µM/h)	1,50 ± 0,20	1,10 ± 0,10	3,50 ± 0,40^{ab}	2,00 ± 0,20^{c}
urée sérique (mM/l)	5,600 ± 0,354	4,80 ± 0,40	9,00 ± 0,50^{ab}	6,80 ± 0,30^{bc}

^{a,b,c,} : significativement différent des groupes contrôle saline, TQ et IFO respectivement avec P<0,05
n = 6, FE = fraction excrétée ; EU = excrétion urinaire

- **Doxorubicine**

L'administration préventive de la TQ atténue la néphrotoxicité de la DOX en réduisant la protéinurie et l'albuminurie. Elle agit en améliorant le statut rénal en antioxydants (élévation de 70% de l'activité de la catalase rénale par rapport au groupe traité uniquement par DOX) et en réduisant la péroxydation lipidique (de 41% par rapport au groupe traité par DOX seul).

Son puissant effet de piégeage de l'anion superoxyde contribue certainement à limiter les dommages oxydatifs donc la TQ agit à différents niveaux du métabolisme de la DOX. **[30]** (voir ***tableau 21***)

Tableau 21 : *Effet de la thymoquinone sur différents paramètres, chez des rats traités par la doxorubicine.* **[30]**

paramètres	sol.saline	TQ	DOX	TQ+DOX
urée sérique (mg/dl)	24,00 ± 3,40	23,00 ± 3,00	37,00 ± 4,20[ab]	26,00 ± 3,10[c]
protéine sérique (g/dl)	6,33 ± 0,70	6,30 ± 0,50	4,00 ± 0,51[ab]	5,50 ± 0,60[c]
albumine sérique (g/dl)	3,20 ± 0,20	3,12 ± 0,25	1,80 ± 0,15[ab]	2,80 ± 0,30[c]
protéine U (mg/mg créatinine)	0,99 ± 0,10	0,96 ± 0,11	41,00 ± 5,00[ab]	20,00 ± 4,50[abc]
albumine U (mg/mg créatinine)	0,42 ± 0,07	0,39 ± 0,05	12,60 ± 2,50[ab]	6,40 ± 2,00[abc]

[a,b,c,] : significativement différents des groupes contrôle saline, TQ et DOX respectivement avec P<0,05 ; n = 6
U = urinaire

- **Cisplatine**

Extrait éthanolique **[139]**
Son association au cisplatine permet d'allonger la durée de vie de 10% et de restaurer le taux d'urée sanguine.
Les auteurs montrent également l'atténuation de la myélosuppression par limitation de la perte en leucocytes et de la baisse de l'hémoglobine (-15,6% et -26% respectivement pour le groupe traité par Nigelle+cisplatine contre -62,4% et -52,5% respectivement pour le groupe traité par le cisplatine seul).
Nous pouvons penser que cet extrait concentré par chromatographie a une teneur particulièrement élevée en TQ.

Thymoquinone **[34]**
L'étude histopathologique montre que la TQ associée au cisplatine atténue fortement les lésions rénales oxydatives. (voir ***tableau 22***)
La clairance à la créatinine et l'urémie sont aussi très significativement améliorées. Le mécanisme d'action n'est pas envisagé mais on peut supposer qu'il s'agit toujours d'une inhibition de la péroxydation lipidique.

Tableau 22 : *Effet chez le rat de l'administration de thymoquinone sur la néphrotoxicité induite par le cisplatine.* ***[34]***

traitement	urée sérique (mM)	créatinine sérique (µM)	vol. urinaire (ml/24h)	clair.créatinine (ml/min/kg)
saline	7,4 ± 0,7	65,1 ± 2,1	10,0 ± 1,8	4,00 ± 0,75
TQ	7,1 ± 0,9	52,7 ± 1,1	12,0 ± 1,7	4,70 ± 0,75
cisplatine	36,0 ± 6,0*	248,0 ± 23,5*	23,5 ± 9,0*	0,60 ± 0,25*
cisplatine+TQ	11,8 ± 1,3*°	97,4 ± 17,0*°	14,0 ± 5,5°	3,10 ± 0,75°

* et ° : significativement différents des groupes traités par la solution saline et par le cisplatine respectivement avec P<0,05 ; n = 6.

- **Gentamicine**

Graines broyées **[81]**
Associées à la GM, elles permettent de restaurer l'urémie et la créatinémie à leurs valeurs normales ; ceci est confirmé par l'étude histopathologique.

Huile **[11]**
L'administration par v.o. d'huile de Nigelle avec la GM diminue la sévérité de certains signes biochimiques de façon dose-dépendante. (voir ***tableau 23***)

Tableau 23 : *Variations biochimiques chez les rats traités par gentamicine et/ou l'huile de Nigelle.* ***[11]***

traitement	créatinine sérique (mg/dl)	urée sérique (mg/dl)	GSH rénal (mM/100g)	STA rénal (mM/100g)
saline	0,37 ± 0,04*	19,40 ± 2,60*	2,21 ± 0,22*	2,11 ± 0,22*
GM	3,17 ± 0,34#	119,30 ± 10,20#	1,59 ± 0,18#	1,67 ± 0,14#
huile (1 ml/kg)	0,33 ± 0,04*	18,80 ± 2,00*	2,80 ± 0,30°	2,44 ± 0,20°
huile (0,5 ml/kg)+GM	2,77 ± 0,40°	98,20 ± 9,50°	1,69 ± 0,20#	1,80 ± 0,20°
huile (1 ml/kg)+GM	1,37 ± 0,04§	31,00 ± 3,60§	2,08 ± 0,20*	1,90 ± 0,20*
huile (2 ml/kg)+GM	0,46 ± 0,04*	28,40 ± 2,90§	2,11 ± 0,20*	1,90 ± 0,20*

*, °, #, § : valeurs significativement différentes avec P<0,05 ; n = 6 ; STA=statut en antioxydant totaux

Les doses de 1 et 2 ml/kg se sont révélées être plus néphroprotectrices avec, à la dose supérieure : restauration de la créatinine sérique, du GSH et du statut total en antioxydants dans le cortex rénal et réduction significative du taux d'urée sanguine ($P<0,05$).

Ceci est confirmé par un examen histologique puisque les groupes traités par les 2 doses supérieures n'ont plus qu'une seule cellule nécrosée dans quelques tubules épars.
Nous pouvons dire à la suite de cette étude, que l'huile exerce son effet néphroprotecteur en maintenant le statut en antioxydants dans le cortex rénal.

1.4.3.3 Discussion

La TQ, l'huile, l'extrait éthanolique et les graines, par leur action antioxydante, peuvent être associés à certains médicaments pour réduire efficacement le stress oxydatif conduisant à une néphrotoxicité.

Dans tous les cas, l'inhibition de la péroxydation lipidique et le maintien en antioxydants dans le cortex rénal permet de protéger l'intégrité des structures et du fonctionnement des reins.

1.4.4 Conclusion

Nous constatons que les travaux ne se limitent pas à l'étude de l'huile ou des graines mais également à celle de la thymoquinone, de l'huile essentielle et des extraits aqueux et alcooliques.
Ici, l'huile et les graines broyées ont montré leur effet néphroprotecteur vis-à-vis de l'administration de gentamicine chez le rat.
Par contre, seule l'huile a été étudiée pour son action hépatoprotectrice vis-à-vis des dommages créés par le paracétamol, le tétrachlorure de carbone ou la D-galactosamine chez les rongeurs. Nous pouvons penser que la graine possédera en partie cette propriété du fait de sa teneur en huile.

Nous retrouverons l'effet antioxydant dans d'autres phénomènes : inflammatoires, infectieux…

2 Action immunomodulatrice

L'emploi traditionnel de la Nigelle dans certaines pathologies comme les infections et les affections inflammatoires amène à rechercher d'éventuelles propriétés immunomodulatrices.
El-Kadi et *al.* furent les premiers à montrer (en 1987) que la Nigelle avait des effets immunomodulateurs sur des lymphocytes T humains *in vitro.* (**[12]** 2003)

2.1 Protocoles expérimentaux

- L'effet sur l'immunité est évalué *in vitro* de plusieurs manières (**[94]** 1995) ; (**[95]** 1999) :
  - Par observation de la réponse lymphocytaire à différents mitogènes ou groupes de cellules allogéniques en présence ou en l'absence de Nigelle.
  - Par observation de l'effet de la Nigelle sur la sécrétion de cytokines par une culture de lymphocytes humains
  - Par mesure de l'activité chimioluminescente de leucocytes (granulocytes) stimulés par le myristate de phorbol et le zymostan : l'oxydation du luminol se fait grâce aux radicaux libres de l'oxygène produits lors de la phagocytose ; la stimulation des granulocytes augmente ce phénomène (production de radicaux libres, oxydation du luminol) ainsi que la quantité de lumière produite. On mesure ensuite la capacité de la Nigelle à piéger les radicaux libres de l'oxygène libérés lors de la phagocytose, ceci se traduisant par une baisse de la chimioluminescence.
  - Par mise en présence de *Staphylococcus aureus* avec une suspension de granulocytes les auteurs ont pu mesurer le taux de mort bactérienne, le taux de phagocytose (nombre total de cocci intracellulaire/nombre de granulocytes) et l'activité phagocytaire (% de granulocytes contenant au moins 3 cocci).
- Les extraits de Nigelle
  - Les auteurs **[94]** ont obtenu l'extrait de Nigelle par dissolution de la poudre de graines dans une solution de tampon phosphate suivie d'une centrifugation et de la récupération de l'extrait soluble surnageant.
  - L'extrait soluble subit ensuite un fractionnement protéique pour libérer 4 fractions : <10 kDa ; 10-30 kDa ; 30-50 kDa et >50 kDa.
  - Les mêmes auteurs **[95]** complétèrent ces travaux en évaluant l'effet du même extrait de Nigelle et de son fractionnement protéique sur d'autres cytokines.

2.2. Résultats

Les résultats furent les suivants:

- La fraction protéique de la graine de Nigelle **stimule la réponse lymphocytaire aux groupes de cellules allogéniques** avec un effet plus marqué pour la fraction protéique de bas poids moléculaire (< 10 kDa). **[94]**
- L'extrait **stimule la production d'IL-1β** par les cellules mononucléaires activées ou non par les cellules allogéniques. L'extrait total est plus actif que ses fractions protéiques. **[94] [95]**
- Aucun effet sur la production d'IL2. **[94]**
- L'extrait protéique **active les lymphocytes T** et **augmente ainsi la sécrétion d'IL3** par les lymphocytes activés ou non. **[94]**
- Les substances testées n'ont **aucun effet sur la sécrétion d'IL4** par les cellules monocytaires non activées ou activées par mitogènes ou par cellules allogéniques. **[95]**
- **Sur la production d'IL8 l'effet est variable** : l'extrait protéique total supprime la production d'IL8 par les cellules mononucléaires non activées mais stimule celle des cellules mononucléaires activées par le mitogène du Pokeweed. **[95]**
- L'extrait protéique supprime l'activité chimioluminescente des leucocytes stimulés par le myristate de phorbol et le zymostan. **[94]**

- Vis à vis du *Staphylococcus aureus* : en présence de 0,5 ou 50 µg/ml de la fraction protéique <10 kDa aucun des 3 paramètres étudiés n'étaient significativement différents du groupe contrôle. Donc la fraction protéique de la graine de Nigelle n'a pas d'activité bactéricide et les auteurs suggèrent qu'elle agit par inhibition de l'activité de la myélopéroxydase des granulocytes.
- Lors d'une étude **[153]** en 2000 visant à évaluer l'effet de l'**huile** de Nigelle sur l'infection au cytomégalovirus chez le rat, il était montré un effet antiviral qui était accompagné d'une augmentation du taux sérique en IFN-γ ainsi que du nombre de cellules Mϕ et de cellules T $CD4^+$. Ainsi l'effet antiviral de l'huile de Nigelle s'exercerait via la stimulation de IFN-γ, des cellules Mϕ et des cellules T $CD4^+$.

2.3 Conclusion

- Les cytokines sécrétées par les lymphocytes, les monocytes ou les macrophages sont des facteurs de régulation de nombreuses fonctions biologiques et notamment de l'immunité.
  La fraction protéique de la graine de Nigelle semble donc agir à la fois sur l'immunité spécifique et sur l'immunité non spécifique.
  Elle stimule les lymphocytes T humains *in vitro* avec augmentation de la sécrétion d'IL3 mais pas de celle de l'IL2 suggérant ainsi que la fraction protéique aurait une action plus spécifique sur le sous-groupe $CD4^+$ des lymphocytes T.
  L'action de la Nigelle sur la production d'IL-1β laisse penser qu'elle agirait par stimulation des macrophages de façon directe ou via l'IL3.
  L'action variable sur l'IL8 ne s 'explique pas au vu des résultats de cette étude.
  La fraction protéique de bas poids moléculaire semble la plus active sur la stimulation lymphocytaire.
- L'huile de Nigelle pourrait aussi avoir une action sur d'autres médiateurs de l'immunité comme l' IFN-γ et les cellules Mϕ.

Des études complémentaires seraient nécessaires pour confirmer les effets immunomodulants de l'huile car c'est sous cette forme que la Nigelle est commercialisée en Europe pour un usage médicinal. Et c'est sa propriété immunostimulante qui est en général mise en avant.
L'action de la graine sur l'immunité n'a pas été étudiée mais son administration permettrait de bénéficier à la fois des propriétés de ses protéines et de son huile.

3 Actions anti-inflammatoire et antipyrétique

La graine de Nigelle a été traditionnellement utilisée dans des affections rhumatismales, quelques travaux ont donc étudié ses effets anti-inflammatoires.

3.1 Les tests

- **Œdème induit par le carraghénane**

Une inflammation aiguë est produite par injection d'une solution de carraghénane à 1% (0,5 ou 1ml) dans la patte postérieure du rat. Ceci crée un œdème.
La Nigelle est administrée par v.o. ou i.p. ½ h à 1 h avant le carraghénane et son effet anti-inflammatoire est évalué par mesure du volume de la patte avant et 2 à 4 heures après l'induction de l'œdème.
Le témoin positif est l'indométacine ou l'aspirine. **[9] [18] [92] [136]**

- **Granulome**

Il est induit de 2 façons :

- Par implantation sous-cutanée d'une boulette de coton sur l'abdomen du rat. L'HE de Nigelle et la TQ sont injectées quotidiennement en i.p. pendant 7 jours et leur effet est évalué par mesure du poids du granulome. Le témoin positif est l'indométacine. **[136]**
- Par application d'huile de croton sur la surface interne de l'une des 2 oreilles de souris. On évalue l'effet anti-inflammatoire local de l'application d'HE de Nigelle en mesurant la différence de poids des 2 oreilles. **[92]** L'effet n'a pas été comparé à celui d'un témoin positif.

3.2 Les résultats

3.2.1 L'huile essentielle et la thymoquinone

Lors d'une étude réalisée en 1997 en Arabie **[136]**, leurs effets sur l'œdème et le granulome a été comparé à celui de l'indométacine.

- **Sur l'œdème:**

Nous observons d'après les résultats (***tableau 24***) un effet anti-inflammatoire sur l'œdème du rat comparable voire supérieur à l'indométacine (9 mg/kg : 68% d'inhibition ; P<0,001) de :
- l'HE à la dose i.p. de 1,55 ml/kg (96% d'inhibition ; P<0,001)
- la TQ à la dose i.p. de 2 mg/kg (105% d'inhibition ; P<0,001)

L'étude réalisée en 2004 en Iran **[92]** montre que l'HE de Nigelle est plus active par voie i.p. que par v.o. : à la dose de 400 µL/kg : on obtient 20% (non significatif, n.s.) et 87% (P<0,001) d'inhibition respectivement par v.o. ou i.p. contre 73 et 79% (P<0,001) avec l'indométacine (10mg/kg).

Tableau 24 : *Effets de l'huile essentielle et de la thymoquinone en injection i.p. sur l'œdème et le granulome du rat.* ***[136]***

TRAITEMENT	OEDEME			GRANULOME		
	dose en i.p.	n	% d'inhibition	dose en i.p.	n	% d'inhibition
contrôle	—	17	—	—	15	—
HE	0,66 ml/kg	8	64,12 ± 7,49*	0,33 ml/kg	9	17,64 ± 5,79**
	1,55 ml/kg	7	96,26 ± 22,56*	0,66 ml/kg	8	46,86 ± 3,66*
TQ	0,5 mg/kg	8	38,85 ± 6,35*	3,0 mg/kg	7	13,04 ± 3,53***
	1,0 mg/kg	9	56,63 ± 10,30*	5,0 mg/kg	6	48,09 ± 2,29*
	5,0 mg/kg	6	104,88 ± 4,24*			
contrôle	—	6	—	—	8	
indométacine	3,0 mg/kg	8	46,9 ± 12,85***	3,0 mg/kg	8	34,37 ± 1,01**
	9,0 mg/kg	8	67,83 ± 7,89*			

, * et ***** :** différence significative entre les produits testés et le groupe contrôle avec P<0,001 ; P<0,01 et P<0,05 respectivement

- **Sur le granulome**

Sur le granulome induit par implantation de coton, **[136]**, la TQ (5 mg/kg) et l'HE (0,66 ml/kg) en i.p. ont un effet anti-inflammatoire supérieur à l'indométacine (3 mg/kg) avec P<0,001 et P<0,01 pour l'indométacine par rapport au groupe contrôle.
L'application locale de 20µL d'HE sur le granulome de l'oreille de souris induit par l'huile de croton **[92]** permettait de le réduire de 50%. Ceci n'a pas été comparé avec un témoin positif.

- La TQ et l'HE en injection i.p. ont un effet anti-inflammatoire comparable à celui de l'indométacine. L'HE contient environ 24% de TQ donc l'effet obtenu avec l'HE est supérieur à celui attendu d'après sa teneur en TQ ; donc d'autres composants de l'HE doivent participer à cet effet.

3.2.2 Les graines broyées

Lors d'une étude réalisée en 2001 en Arabie **[9],** 500 mg de graines broyées, administrées par v.o. permettaient de réduire l'œdème significativement (P<0,018) 3 heures après l'injection de carraghénane par rapport au groupe contrôle.
L'effet était comparable à celui de l'aspirine à la dose de 100 mg/kg par v.o.
A ces doses nous pouvons considérer que l'aspirine et les graines de Nigelle exercent une action anti-inflammatoire équivalente.

3.2.3 Autres extraits

D'autres extraits ont également montré un effet anti-inflammatoire important vis à vis de l'œdème lors d'une étude réalisée en 1997 en Arabie **[18]** ; mais le test n'a pas été fait en parallèle avec un témoin positif. Voici ces résultats 2 heures après injection de carraghénane (par rapport au groupe contrôle avec P<0,001) :

- Extrait à l'éther de pétrole	dose par v.o. de 215 mg/kg	Inhibition de 88%
- Poudre	dose par v.o. de 645 mg/kg	Inhibition de 84%
- Extrait alcoolique	dose par v.o. de 160 mg/kg	Inhibition de 79%

L'extrait à l'éther de pétrole extrait l'huile et une partie de l'huile essentielle ; mais comme cette dernière est présente en faible quantité, on pourra pratiquement assimiler l'effet de l'extrait à l'éther de pétrole à celui de l'huile.

3.2.4 Discussion

L'extrait alcoolique, l'huile, la poudre par voie orale réduisent significativement l'œdème chez le rat mais ils n'ont pas été comparés à un témoin positif. **[18]**
L'activité anti-inflammatoire de l'huile n'a pas été étudiée mais elle peut être reflétée par celle de l'extrait à l'éther de pétrole.
Les graines broyées à la dose de 500 mg/kg ont montré la même activité anti-inflammatoire que l'aspirine (100 mg/kg). **[9]**

Dans ces études, l'HE et la TQ montrent un effet anti-inflammatoire chez le rat remarquable (réduction de l'œdème et du granulome) comparable à celui de l'indométacine lors de l'administration par voie i.p. des extraits de Nigelle.
La TQ a un effet anti-inflammatoire supérieur à celui de l'HE.
La voie orale est visiblement moins active et ceci pourrait être dû à la métabolisation hépatique de la TQ en dithymoquinone par la DT-diaphorase.

Un effet anti-inflammatoire local a également été mis en évidence par application d'HE sur le granulome de l'oreille de la souris, induit par l'huile de croton. **[92]**

3.3 Mécanisme d'action

Il ne semble pas être entièrement élucidé et certainement plusieurs mécanismes sont impliqués. Nous allons en évoquer quelques uns sans écarter l'idée que des phénomènes complémentaires non connus actuellement peuvent intervenir.

3.3.1. Action sur la production d'éicosanoïdes

2 enzymes du métabolisme de l'acide arachidonique : la cyclo-oxygénase et la 5-lipoxygénase (5-LO) conduisent à la formation de thromboxane B_2 (TxB_2) et de leucotriène B_4 (LTB_4) respectivement ; ces 2 composés (appartenant aux éicosanoïdes) interviennent dans les phénomènes de l'inflammation.

- **Protocole**
  - Dans l'étude **[100]** réalisée en 1995 les auteurs évaluent l'effet de l'huile et de la TQ sur la production d'éicosanoïdes par les leucocytes de péritoine de rats stimulés par le calcium ionophore. Les témoins positifs sont l'indométacine (inhibitrice de la cyclo-oxygénase) et la fisétine (inhibitrice des 2 enzymes).
  - Dans d'autres travaux réalisés en 2002, **[67]** les auteurs se sont penchés sur l'inhibition de la synthèse des produits issus de l'action de la 5-lipoxygénase (principalement le LTB_4 et l'acide 5-hydroxyéicosatetraénoïque : 5-HETE) dans les granulocytes de rats (stimulés par le calcium ionophore). Différentes doses d'huile de Nigelle, de nigellone et de TQ ont été testées.

- **Résultats**
  - L'huile et la TQ inhibent de façon dose-dépendante la production de LTB_4 et TxB_2 par les leucocytes de rats. Les 2 substances sont plus efficaces pour l'inhibition de libération de TxB_2. Les auteurs évoquent une inhibition de la phospholipase A2 comme site d'action de la TQ et de l'huile.
    La TQ est beaucoup plus active que l'huile (6 fois plus pour inhibition de production de TxB_2 et 10 fois plus pour LTB_4).
  - Les 3 principes (huile, nigellone et TQ) inhibent de façon dose-dépendante la production de 5-HETE et celle des produits de la 5-LO, avec une activité très supérieure pour la TQ par rapport à l'huile ; la nigellone ayant la plus faible efficacité.

- **Discussion**

La TQ et l'huile dans une moindre mesure, inhibent la formation de 2 produits issus du métabolisme de l'acide arachidonique : TxB_2 et LTB_4, 2 médiateurs fortement impliqués dans les phénomènes inflammatoires.
Les auteurs suggèrent que d'autres acides gras polyinsaturés de l'huile (par exemple l'acide éicosapentadiénoïque) pourraient aussi contribuer à l'activité anti-inflammatoire en intervenant dans le métabolisme de l'acide arachidonique.

3.3.2 Action sur la production de monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote (NO) est un des médiateurs sécrétés par les macrophages. Il est produit à partir de la L-arginine sous l'action de la monoxyde d'azote-synthétase (MAS) dans des conditions physiologiques normales ou pathologiques. Son action principale est la vasodilatation dépendante du GMP-cyclique et la cytotoxicité contre des agents pathogènes du système de défense de l'immunité non spécifique. Il joue un rôle majeur dans les phénomènes inflammatoires.

L'enzyme MAS existe sous la forme de 3 isomères ; 2 de ceux-ci sont régulés par le système calcium/calmoduline alors que le 3ème (celui étudié ici) est régulé au niveau de sa transcription par des médiateurs comme les interleukines et l'interféron, ou par des stimuli inflammatoires ou bien encore des endotoxines comme les lipopolysaccharides bactériens (LPS). **[70] [123]**

- **Protocole**

Les macrophages de péritoine de rat sont pré-incubés avec l'extrait de Nigelle (extrait aqueux **[123]** et TQ **[70]**) puis mis en présence de LPS de *Escherichia coli* qui activent la production de NO par les macrophages).
La quantité de NO produite par les macrophages en présence ou absence de Nigelle est mesurée et comparée. On évalue le pourcentage d'inhibition de sa production.

- **Résultats**

L'étude **[123]** réalisée en 2003 au Pakistan montre que la pré-incubation des macrophages avec un **extrait aqueux** de graines de Nigelle (du Pakistan) crée une baisse dose-dépendante de la production de NO.
La préparation d'un extrait bouilli privé de ses protéines a la même activité ; ce qui révèle que les composants actifs ne sont pas de nature protéique.

Au cours d'autres travaux réalisés en 2002 **[70],** la **TQ** inhibe de façon dose–dépendante la production de NO par les macrophages de péritoine de rat stimulés par les LPS.
Les suites de cette expérience montrent que la TQ induit son effet par contrôle de la transcription génique de l'enzyme MAS puisque :

- la TQ diminue de façon dose-dépendante le taux protéique de l'enzyme dans les macrophages de rat
- laTQ inhibe l'augmentation de l'expression par l'ARN messager de l'enzyme induite par la présence de LPS
- la TQ réduit l'immuno-réactivité de l'enzyme dans les macrophages

- **Discussion**

L'inhibition de la production de NO par les macrophages chez l'animal participe à l'action anti-inflammatoire.
La TQ et l'extrait aqueux ont démontré posséder cette activité. La fraction active de l'extrait aqueux n'est pas protéique et la TQ est peu présente dans cet extrait. Donc d'autres composants participent à l'inhibition.
L'effet s'exerce par contrôle de la transcription de l'enzyme MAS et par diminution de son expression.

3.3.3 Autres mécanismes

Les auteurs de l'étude sur l'inhibition de la production d'éicosanoïdes **[67]** évoquent également un mécanisme d'action antioxydant (par préservation du GSH intracellulaire comme cela a été souvent démontré et inhibition de la péroxydation lipidique) pour cette activité anti-inflammatoire des 3 principes : TQ, nigellone et huile. Ce qui expliquerait l'action faible de la nigellone peu antioxydante par rapport à celle de la TQ.

Bien que les différents extraits se soient révélés fortement anti-inflammatoires et de puissance parfois équivalente à l'indométacine, des travaux supplémentaires seraient nécessaires pour élucider le mécanisme d'action.

3.4 Effet antipyrétique

Seulement 2 travaux étudient ces effets et les résultats sont contradictoires.

Chez le rat, **l'extrait aqueux** de graines de Nigelle par v.o. (500 mg/kg) administré après injection sous cutanée (s.c.) d'une solution de levures (afin de provoquer une fièvre) n'a pas permis de réduire la température rectale contrairement au témoin positif représenté par l'aspirine**.** (**[9]** 2001)

Par contre, **les extraits aqueux et méthanolique** injectés par voie i.p. chez la souris faisaient significativement chuter la température rectale au bout de 30 minutes de, respectivement 3,15 ± 0,35℃ et 2,18 ± 0,41℃. (**[17]** 2003)

- Ces résultats ne permettent pas de conclure mais nous pouvons faire quelques remarques :
  - ✓ Bien souvent l'extrait aqueux s'est montré beaucoup moins actif que les autres extraits et il aurait été nécessaire de tester l'huile par exemple sur la fièvre provoquée chez le rat dans la 1ère étude.
  - ✓ La fraction protéique de la graine de Nigelle module la libération des cytokines, or la fièvre est justement provoquée par la libération de cytokines pyrogènes qui vont ensuite augmenter la synthèse de prostaglandine E2 ; donc cet effet est envisageable et des travaux complémentaires seraient nécessaires.

3.5 Conclusion

Chez l'animal il a été observé une très bonne activité anti-inflammatoire de la TQ, de l'HE, certainement de l'huile (extrait à l'éther de pétrole), de la poudre et de l'extrait alcoolique.
La TQ semble avoir l'action la plus importante (équivalente à l'indométacine) particulièrement par voie i.p. Ceci étant dû certainement à l'inactivation enzymatique de la TQ dans le tractus gastro-intestinal.

L'importance de cet effet anti-inflammatoire peut venir du fait que plusieurs mécanismes d'action s'additionnent :

- Inhibition de la production des éicosanoïdes
- Inhibition de la libération de NO
- Effet antioxydant et inhibition de la péroxydation lipidique.

L'effet anti-inflammatoire de l'huile de Nigelle est reflété par celui de l'extrait à l'éther de pétrole ; la poudre et l'extrait alcoolique ont une action intéressante mais moindre.

Ceci confirme l'usage traditionnel de l'huile et de la graine de Nigelle dans les phénomènes rhumatismaux et les affections inflammatoires.

La Nigelle pourrait par ailleurs avoir un effet antipyrétique mais les études manquent à ce sujet.

4 Action sur le système nerveux central

4.1 Action sédative

4.1.1 Les tests

a) **Test du temps de sommeil induit par le sodium de pentobarbital**
La molécule est injectée aux rongeurs prétraités par la Nigelle ; le temps de sommeil du groupe prétraité est comparé au groupe traité par le pentobarbital seul.

b) **Test du champ ouvert (activité locomotrice)**
On mesure la déambulation, le nombre de léchages et le nombre de cabrages des rongeurs placés dans un espace libre pendant un temps donné et prétraités ou non par la Nigelle.

c) **Test du stress à la nage**
Les rongeurs sont soumis à une nage forcée pendant 15 minutes. Le lendemain le test est reconduit après pré-traitement ou non par la Nigelle. On mesure alors durant 5 minutes les temps d'immobilité observés.

d) **Test du comportement explorateur**
Les souris sont placées sur une plaque percée de trous. On mesure le nombre de trous explorés en un temps donné après administration ou non de Nigelle.

e) **Test de l'activité motrice spontanée**
Il est évalué le nombre de fois où la souris, par ses déplacements, en un temps donné, traversera un faisceau lumineux après pré-traitement ou non par la Nigelle.

f) **Test de coordination motrice**
On mesure le temps de maintien de la souris sur une piste rotative après administration ou non de la Nigelle.

Les extraits testés sont :

- L'huile : tests a) b) c) : dose par v.o. aux rats de 1 ml/kg ; le témoin positif est la chlorpromazine (3 mg/kg en injection i.p.). n=10 **[116]**
- Les extraits aqueux et méthanolique : tests d) e) f) : injection i.p. de l'équivalent de 1,25 g/kg de graines séchées à des souris ; pas de témoin positif. n=6 **[17]**
- La thymoquinone : tests a) b) f) : injection i.p. à des souris de différentes doses (20 à 80 mg/kg) ; le témoin positif est le diazépam. n= 10 **[99]**

4.1.2 Les résultats

- **L'huile**
  Elle induit chez le rat (**[116]** 1993) :
  - un allongement significatif (P<0,05) du temps de sommeil induit par le pentobarbital de 45,42 minutes contre 33 minutes avec le groupe contrôle.
  - dans le test du champ ouvert, une baisse de la déambulation de 61,6% avec l'huile contre 37% avec la chlorpromazine (pour les 2 : P<0,05 par rapport au groupe contrôle).
  - dans le test du stress à la nage : un temps d'immobilité de 216 secondes (P<0,05) pour le groupe traité par l'huile contre 198 et 206 secondes (n.s.) pour le groupe contrôle et témoin positif (chlorpromazine) respectivement

- **Les extraits méthanolique et aqueux** (**[17]** 2003)
  Ils entraînent chez la souris une baisse très importante du comportement explorateur, de l'activité motrice spontanée et de la coordination motrice par rapport au groupe non traité.
  Il n'y a pas de différence significative entre les 2 extraits sauf dans le test de la coordination motrice où l'extrait méthanolique est 2 fois plus actif que l 'extrait aqueux.

- **La thymoquinone** (**[99]** 2004)
  - A la dose de 80 mg/kg, elle n'augmente pas significativement le temps de sommeil induit par le pentobarbital ; alors que le diazépam l'augmente de 18,5 minutes par rapport au groupe contrôle (P<0,001).
  - Aux 3 doses testées (20, 40 et 80 mg/kg) la TQ réduit l'activité motrice totale de façon très significative (P<0,001) et supérieure au diazépam (3 mg/kg) (P<0,01).

- La TQ à la dose de 80 mg/kg crée une incoordination motrice légèrement inférieure à celle induite par le diazépam avec un temps de maintien sur la piste de 26,7 et 5,2 secondes respectivement (P<0,001) contre 300 secondes pour le groupe contrôle.
- Donc la TQ a un effet sédatif très manifeste dans les 2 derniers tests.

4.1.3 Discussion

L'huile, la TQ, les extraits aqueux et méthanolique ont une action sédative sur le système nerveux central.
Aux doses testées, l'effet de l'huile est équivalent voir supérieur à celui de la chlorpromazine et l'effet de la TQ à celui du diazépam.
Nous ne pouvons comparer l'effet sédatif des extraits entre eux ; nous pouvons seulement évoquer l'action supérieure de l'extrait méthanolique par rapport à l'extrait aqueux. Ceci pourrait être dû à la présence de thymoquinone généralement extraite par le méthanol.
Il semble cependant que la TQ soit la plus active et que l'huile et l'extrait méthanolique le soit un peu moins.
Précisons que le test du comportement explorateur mesure également le degré d'anxiété. La Nigelle aurait donc aussi un effet anxiolytique. **[17]**
Le mécanisme d'action sera envisagé plus loin.

4.2 Action antalgique

4.2.1 Les tests

Différents tests sont nécessaires pour mettre en évidence cette activité chez les rongeurs :

- **Douleurs induites par agent chimique** :
  - **Test de la contorsion** : une injection i.p. d'acide acétique crée une contraction des muscles abdominaux avec extension des pattes, on compte le nombre de contractions. Ce test évalue un effet analgésique périphérique sur la douleur viscérale. **[92]**
  - **Test au formol** : il est injecté dans la patte arrière et on détermine le temps de léchage de la patte pendant 2 périodes de 5 minutes (phase précoce et phase tardive, la 1ère implique un mécanisme central, la 2ème un mécanisme à la fois central et périphérique). **[1]**
- **Douleurs induites par agent thermique**
  - **Test de la plaque chaude** : on détermine le temps de latence entre le dépôt de l'animal sur une plaque métallique maintenue à environ 55°C et le moment où il réagit à la douleur (léchage ou sursaut). **[1]**
  - **Test de la chaleur sur la queue** : un faisceau lumineux est envoyé sur la portion distale de la queue de souris, on mesure le temps de latence jusqu'au retrait de la queue. **[92]**
- **Douleurs induites par agent mécanique**
  - **Test du pincement de la queue** : ceci se fait par un appareil, on mesure le temps de latence jusqu'au moment où l'animal réagit par un cri ou en mordant l'appareil. **[1]**
  - **Test de la pression de la queue** : elle est placée dans un analgésimètre, on mesure le temps de latence jusqu'à son retrait. **[17]**

Les substances sont testées en comparaison avec un témoin positif (morphine, indométacine, chlorpromazine). La naloxone (antagoniste morphinique des récepteurs supra spinaux aux opioïdes) est parfois ajoutée à la substance testée. Si la naloxone inhibe l'effet antalgique de la substance, c'est qu'elle exerce son activité par stimulation des récepteurs précités ; donc par un mécanisme central.

4.2.2 Les résultats

- **L'huile essentielle :** action démontrée par une étude réalisée sur la souris en 2004 en Iran **[92]** :
  - Le test de la contorsion :
    L'HE par v.o. (800 µl/kg) crée une inhibition des contorsions de 70% contre 81% pour l'indométacine (10 mg/kg i.p.) par rapport au groupe contrôle avec P<0,001.
  - Le test au formol :
    Différentes doses par v.o. et i.p. testées ont un effet analgésique dose-dépendant qui est supérieur dans la phase tardive et par voie i.p. où l'action est équivalente à celle de la morphine (10 mg/kg i.p.) avec P<0,001.
    Cette activité n'est pas antagonisée par l'ajout de naloxone.

- Le test de la chaleur sur la queue :
  L'HE augmente significativement le temps de réaction par rapport au groupe contrôle (P<0,01) mais son effet antalgique est inférieur à celui de la morphine bien qu'il dure plus longtemps.

➢ L'HE a une action analgésique centrale certainement couplée à un mécanisme périphérique.

❖ **L'huile**

- Dans une autre étude **[116]** réalisée en 1993 en Inde chez les rongeurs, l'huile ainsi que la morphine inhibent significativement (P<0,05) la douleur dans le test de la chaleur sur la queue, de la plaque chaude et de la contorsion, mais l'huile est 2 à 3 fois moins puissante que la morphine.
- Dans une étude réalisée sur la souris en 2000 l'huile par voie orale est active de façon dose-dépendante dans le test au formol et ses effets sont plus marqués dans la phase précoce et enfin l'addition de naloxone inhibe ces effets. Cette étude n'a pas été effectuée en comparaison avec un témoin positif. **[1]**

➢ L'effet analgésique central est clairement démontré avec une efficacité néanmoins inférieure à la morphine aux doses testées.

❖ **Les extraits aqueux et alcooliques**

- Ces extraits, dans le test de la plaque chaude et de la pression de la queue chez la souris ont montré un effet analgésique central. (**[17]** 2003)

➢ L'extrait alcoolique (l'équivalent de 1,25 g de graine séchée /kg en i.p.) est le plus puissant et d'activité supérieure à l'acide salicylique (100 mg/kg, i.p.).

❖ **La thymoquinone**

- Dans le test au formol chez la souris **[1]** l'administration de TQ à différents dosages et par différentes voies d'administration (pas de témoin positif) entraîne une inhibition de la réponse à la douleur de façon dose-dépendante avec un effet bien plus marqué en injection i.p. et en phase tardive (seulement 50% de la dose par v.o. est nécessaire pour obtenir le même effet par voie i.p.).
  La naloxone atténue significativement l'effet de la TQ dans la phase précoce.

➢ La TQ a donc un effet antalgique central.

4.2.3 Mécanisme d'action

Les activités antalgiques de l'huile et de la TQ ont pu être antagonisées par la naloxone ce qui signifie que la Nigelle exerce son effet via la stimulation des récepteurs aux opioïdes supra spinaux.
Une étude **[1]** montre quels sous récepteurs sont responsables de l'effet antalgique de la TQ dans le test au formol, lors de son administration aux souris (4 mg/kg en i.p.) en présence de différents antagonistes de ces sous récepteurs morphiniques :

- La naloxonazine qui bloque le sous récepteur aux opioïdes μ_1
- La nor-binaltorphimine qui bloque le sous récepteur aux opioïdes κ
- Le naltrindole qui bloque le sous récepteur aux opioïdes δ

L'effet antalgique de la TQ est significativement renversé par les antagonistes des récepteurs μ_1 et κ dans la phase précoce, pas d'action dans la phase tardive. Le naltrindole n'a aucun effet.
Le mécanisme central par lequel la Nigelle exerce son effet est la stimulation des sous récepteurs aux opioïdes μ_1 et κ, et proviendrait principalement de la présence de TQ dans les extraits.

4.2.4 Discussion

La propriété antalgique a été montrée par différents tests pour l'huile, l'HE, l'extrait aqueux et méthanolique et la TQ.
Seul les effets de l'HE et de l'huile ont pu être comparés à celui d'un témoin positif, la morphine.
L'HE s'est révélée être aussi puissante à la dose de 10 mg/kg alors que l'huile était 2 à 3 fois moins active que la morphine aux doses testées.
L'effet antalgique s'exerce principalement par un mécanisme central en stimulant les sous récepteurs aux opioïdes μ_1 et κ ; mais les actions antalgiques de l'HE et de la TQ beaucoup plus marquées dans la phase tardive du test au formol nous indiquent l'existence de mécanismes périphériques.

L'effet antalgique est dans certain cas très lié à l'effet anti-inflammatoire : il a été montré que la réponse douloureuse aux tests de la contorsion et au formol pouvait être efficacement inhibée soit par des anti-inflammatoires soit par des drogues narcotiques. **[1]** L'inhibition de la production d'éicosanoïdes vue plus haut fait certainement partie de ces mécanismes périphériques.

4.3 Action anticonvulsivante

4.3.1 Les tests

Cette étude a été réalisée en 2004 en Iran sur des souris **[99].**

- **Effet de la thymoquinone** (en i.p.) sur la crise d'épilepsie provoquée soit par le pentylènetétrazole (PTZ : modèle expérimental pour reproduire la crise du "petit mal" épileptique) soit par électrochocs (modèle reproduisant le "grand mal" épileptique).
  On évalue le temps de latence entre les crises, la durée de la crise, le pourcentage de protection contre la crise et contre la mortalité.
  Le témoin positif est une benzodiazépine (BDZ), le diazépam.
- **Récepteurs impliqués**
  2 molécules spécifiques sont administrées pour voir si leur effet antagonise celui de la TQ sur la crise épileptique :
  - Le flumazénil : antagoniste spécifique du site des BDZ des récepteurs GABA. (Il a été montré que la PTZ diminuait le tonus GABAergique par inhibition du site des BDZ des récepteurs GABA.
  - La naloxone : antagoniste des récepteurs aux opioïdes.

4.3.2 Les résultats

- **Effets de la thymoquinone**
  - Sur la crise induite par électrochocs : la TQ n'a aucun effet sur le temps de latence et la durée des crises par rapport au groupe contrôle ; par contre elle exerce une protection totale sur la mortalité à toutes les doses testées ; tout comme le diazépam.
  - Sur la crise induite par PTZ : la TQ exerce une action anti-convulsivante de façon dose-dépendante maximale lors de son administration 60 minutes avant la PTZ avec :
    - une prolongation efficace du temps de latence entre les crises à la dose de 80 mg/kg par rapport au groupe contrôle (P<0,01)
    - une réduction de la durée des crises de moitié (P<0,001) et une protection à 100% de la mortalité à la dose de 80 mg/kg (P<0,001).
    - mais l'effet du diazépam reste supérieur sauf en ce qui concerne la mortalité. (***tableau 25***)

Tableau 25 : *Effet de la thymoquinone (en i.p. 60 minutes avant injection du pentylénetétrazole) sur la crise d'épilepsie induite par le pentylénetétrazole chez la souris.* ***[99]***

traitement (mg/kg)	latence (secondes)	durée (secondes)	protection c/ la crise (%)	protection c/ la mortalité (%)
contrôle	44,4 ± 2,1	12,2 ± 0,6	0	0
diazépam 1	415,6 ± 10,5***	5,1 ± 0,4***	42,8	100
diazépam 1,5	587,1 ± 1,4***	0***	85,7	100
diazépam 3	600 ± 0***	0***	100	100
TQ 20	60,6 ± 2,8	—	0	25
TQ 40	265,7 ± 53,2*	5,8 ± 0,5***	14,3	71,4
TQ 80	341,1 ± 69,1**	6,5 ± 0,6***	14,3	100

*, **, ***: significativement différent du groupe contrôle avec respectivement P<0,05 ; P<0,01 ; P<0,001.

- **Etude des récepteurs**
  - Le flumazénil :
    Il antagonise significativement l'action du diazépam.
    Seul l'effet de la TQ sur le temps de latence est antagonisé (pas d'effet sur la durée de la crise).
  - La naloxone :
    L'effet de la TQ sur le temps de latence et la durée de la crise est significativement antagonisé.

  ➢ La TQ agit en augmentant le tonus GABAergique via la stimulation des récepteurs aux opioïdes.

4.3.3 Discussion

- Dans le modèle du grand mal épileptique la TQ n'agit pas sur la durée de la crise mais elle protège contre la mortalité.
- La TQ possède un effet anti-convulsivant chez la souris dans le modèle reproduisant le petit mal épileptique où elle permet, à la dose i.p. de 80 mg/kg :
  - de réduire la durée de la crise
  - d'espacer les crises
  - de protéger totalement contre la mortalité
- La TQ affecte probablement le complexe-récepteur $GABA_A$-benzodiazépine en inhibant le système GABAergique via un antagonisme compétitif du site des benzodiazépines des récepteurs GABA ; ceci via la stimulation des récepteurs aux opioïdes.
- Chez la souris souffrant du petit-mal épileptique, la TQ présente donc un réel intérêt.

4.4 Conclusion

Les différents principes de la graine de Nigelle (TQ, huile, HE, extraits aqueux et alcooliques) sont sédatifs et anxiolytiques chez l'animal par action sur le système nerveux central. Cet effet peut provenir de la stimulation des sous récepteurs aux opioïdes κ.
Mais cette sédation provoquée par la Nigelle chez le rongeur serait un inconvénient majeur s'il était retrouvé lors d'essais cliniques chez l'homme et conduirait à respecter certaines précautions d'emplois.

Une action antalgique importante a été observée par action sur le système nerveux central (stimulation des sous récepteurs aux opioïdes μ_1 et κ) ainsi que par effet périphérique après administration de TQ et d'HE mais aussi d'huile et d'extraits aqueux et alcoolique.
Les effets anti-inflammatoires de la Nigelle vus précédemment contribuent également à réduire la douleur (effets périphériques).

Pour ces propriétés la TQ semble être le principal agent responsable de l'effet sur le système nerveux central d'où une action sédative et antalgique supérieure.
L'huile possède ces propriétés mais est moins active.

La TQ a de plus montré son action anti-convulsivante intéressante dans le modèle du petit mal épileptique chez la souris.

5 Actions respiratoires

La Nigelle a été traditionnellement utilisée pour traiter l'asthme et les allergies respiratoires.

5.1 Action bronchodilatatrice

Les travaux sur le muscle de la trachée permettent de mesurer l'action bronchodilatatrice de la Nigelle. Cette propriété est intéressante dans le cas de l'asthme où le bronchospasme est l'évènement premier.
La recherche du mécanisme d'action est étroitement liée aux travaux sur la trachée car la bronchodilatation est un phénomène qui découle de différents effets biologiques ; parmi ceux-ci **[44]** :

- Un antagonisme calcique
- Un blocage des récepteurs histaminiques H_1
- Une action anticholinergique
- L'ouverture des canaux potassiques
- La stimulation des récepteurs β-adrénergiques (entraîne la dilatation des bronches)
- Une activité méthylxanthine (par activation des phosphodiestérases et maintien du taux d'APM cyclique : bronchodilatation)
- L'inhibition de la libération d'éicosanoïdes
- Etc.

5.1.1 Les tests

On observe les effets de la Nigelle sur la contraction des muscles isolés de la trachée de cobayes. Cette contraction peut être induite par différents agents.
Le mécanisme d'action est étudié parallèlement ; c'est-à-dire soit :

- l'agent utilisé pour contracter le muscle donne une indication du mécanisme par lequel la Nigelle exerce son effet relaxant : histamine, acétylcholine, sérotonine, solution de chlorure de calcium (blocage des canaux calciques).
- par l'observation de l'effet antagoniste de l'action relaxante de la Nigelle par ajout d'une molécule **[16]** :
  - effet anticholinergique : par ajout d'atropine
  - effet β-adrénergique : par ajout de propanolol
  - effet anti-histaminique H_1 : par ajout de chlorphéniramine
  - activité méthylxanthine : par ajout de théophylline
  - inhibition de la libération d'éicosanoïdes : par ajout de quinacrine (inhibiteur de la phospholipase A2), indométacine (inhibiteur de la cyclo-oxygénase) et acide nor-dihydroguiarétique (inhibiteur de la lipoxygénase)
  - etc.

5.1.2 Les résultats

❖ **Extrait aqueux**

- **Effet inhibiteur calcique** : il montre une inhibition dose-dépendante de la contraction de la trachée induite par des concentrations croissantes de chlorure de calcium.
  L'effet est comparable à celui du diltiazem (inhibiteur calcique). (**[46]** 2002)

- **Effet par ouverture des canaux potassiques** : (**[47]** 2004)
  Cette étude est contradictoire avec la précédente.
  L'extrait aqueux ainsi que le diltiazem inhibent de façon dose-dépendante la contraction de la trachée induite par la métacholine en présence d'une solution de Krebs ordinaire. Contrairement aux travaux vus plus haut, la même expérience réalisée en l'absence de Ca^{2+} dans le milieu d'incubation ne change pas les résultats.
  De plus, les extraits n'ont aucun effet sur la contraction induite par une solution riche en K^+ alors que seul le diltiazem est inhibiteur de façon dose-dépendante.
  Dans cette étude, nous ne pouvons donc envisager un antagonisme calcique et les auteurs pensent que l'effet relaxant des extraits se fait par ouverture des canaux potassiques.
  Ces différences pourraient provenir des variations de composition des graines suivant leur provenance géographique.

- **Effet anticholinergique** : l'adjonction d'atropine antagonise l'action bronchodilatatrice des extraits sur la contraction induite par la métacholine.
  Par contre l'adjonction de propanolol ou de chlorphéniramine ne modifie pas l'activité relaxante de l'extrait. (**[44]** 1997)

➢ En conclusion, l'extrait aqueux exerce son action bronchodilatatrice par effet inhibiteur calcique ou par ouverture des canaux potassiques et par effet anticholinergique. Il n'a pas d'effet antihistaminique ou β-adrénergique.

❖ **Extrait aqueux/méthanolique et extrait à l'éther de pétrole (huile)**

- **Effet inhibiteur calcique :**
  L'extrait à l'éther de pétrole (EEP) et l'extrait aqueux/méthanolique (EAM) créent une relaxation dose-dépendante du muscle de la trachée pré-contractée par une solution riche en K^+.
  L'effet de l'EEP qui peut refléter l'activité de l'huile de Nigelle, est 10 fois supérieur à celui de l'EAM et est comparable à celui du vérapamil (inhibiteur calcique). (**[89]** 2001)

➢ Ces résultats indiquent que les extraits aqueux/méthanoliques et à l'éther de pétrole relaxent la trachée par inhibition calcique et que l'activité et concentrée dans la fraction organique.

❖ **Thymoquinone**
Elle induit une relaxation dose-dépendante du muscle de la trachée pré-contractée par le carbacol.

- **Effet anticholinergique** : la TQ abolit partiellement la contraction induite par l'acétylcholine.
- **Antagonisme non spécifique des récepteurs H_1** : la TQ abolit la contraction induite par l'histamine
- **Antagonisme non spécifique des récepteurs sérotoninergiques** : la TQ abolit la contraction induite par la sérotonine.
- **Inhibition de la libération d'éicosanoïdes** : l'effet de la TQ est potentialisé par le pré-traitement du muscle par : la quinacrine, l'acide nor-dihydroguiarétique.
- Dans les même conditions, la pré-incubation avec le propanolol, l'indométacine ou la théophylline n'ont pas d'effet sur l'action relaxante de la TQ.
- L'effet inhibiteur calcique n'a pas été étudié.

➢ Par conséquent, la TQ semble agir par antagonisme non spécifique des récepteurs à l'histamine H_1 et des récepteurs à la sérotonine, par action anticholinergique et certainement partiellement par inhibition de la production des produits de la lipoxygénase. (**[16]** 2001)

❖ **Huile essentielle**

- **Effet inhibiteur calcique**
  L'HE a pu inhiber :
  - la contraction induite par l'histamine chez le lapin et par l'acétylcholine chez le cobaye (elle est inactive en cas d'absence d'ions Ca^{2+} dans le milieu)
  - celle induite par une solution d'incubation riche en K^+. L'HE paraît exercer son action par antagonisme calcique. (**[21]** 1992)

- **Effet anticholinergique** : cet effet a été démontré pour l'α-pinène qui est un composant important de l'HE de Nigelle mais non spécifique. **[44]**

➢ Il a donc été montré l'effet inhibiteur calcique et anticholinergique de l'HE mais étant donné que la TQ est un des composants principaux de l'HE de Nigelle, nous pouvons supposer que l'HE pourra relaxer le muscle trachéal par le même mécanisme que la TQ à savoir : par antagonisme non spécifique des récepteurs H_1et sérotoninergiques.

5.1.3 Discussion

Les graines de Nigelle renferment certainement plusieurs composants à activité relaxante sur le muscle de la trachée, avec des mécanismes d'action différents. Ceci expliquerait les variations observées lors des divers travaux : non seulement chaque principe (aqueux, huile essentielle…) a une composition qui lui est propre mais il faut y ajouter l'incidence de la provenance géographique des graines sur la composition chimique d'un même extrait. Des travaux complémentaires seraient nécessaires.

Néanmoins cet effet sur la trachée serait en faveur de l'utilisation de l'huile de Nigelle dans les problèmes asthmatiques.

5.2 Action sur la fréquence respiratoire et la pression intra-trachéale ([76] 1993)

5.2.1 Les tests

- **Effet de l'huile essentielle et de la thymoquinone :**
  Différentes doses d'HE et de TQ sont injectées en i.v. à des cobayes anesthésiés à l'uréthane pour voir leur action sur la fréquence respiratoire (FR) et la pression intra trachéale (PIT).

- **Mécanisme d'action**
  Différentes molécules ont été administrées pour étudier leurs effets sur les modifications respiratoires provoquées par la Nigelle : mépyramine (antihistaminique H_1), atropine (anticholinergique), réserpine (déplétion des stocks neuronaux et cellulaires en monoamines : histamine, sérotonine et noradrénaline), indométacine (inhibiteur de la cyclo-oxygénase), hydrocortisone (inhibiteur de la phospholipase A2) et diéthyl-carbamazine (inhibiteur de la synthèse de prostaglandine et leucotriène)

5.2.2 Les résultats

❖ **L'huile essentielle**

- Elle augmente de façon dose-dépendante:
  - la fréquence respiratoire FR (pour des doses allant de 4 à 16 µl/kg) (voir ***tableau 26***)
  - la pression intra trachéale PIT (doses de 4 à 32 µl/kg) (voir ***tableau 27***)

  La FR atteint un maximum 30 secondes après injection de l'HE et le retour à la normale se fait 3 à 5 minutes plus tard.
  Mais il est observé que l'augmentation de la FR est précédée d'une bronchoconstriction histamine-like.

- La mépyramine, l'atropine et la réserpine antagonisent significativement les modifications respiratoires induites par l'HE et préviennent la bronchoconstriction.
  L'indométacine, l'hydrocortisone et la diéthyl-carbamazine n'ont eu aucun effet.
  L'HE aux doses de 1 à 8 µg/ml n'entraîne pas de contraction spontanée de la trachée isolée.

Tableau 26 : *Effet de l'huile essentielle sur la fréquence respiratoire de cobayes.* ***[76]***

HE en µL/kg	% d'élévation de la fréquence respiratoire minute(s) après administration		
	0,5	1	3
4	85,20 ± 17,50	85,70 ± 27,50	18,10 ± 5,70
8	163,20 ± 19,60**	148,90 ± 21,30	39,10 ± 19,10
16	240,45 ± 23,20**	163,60 ± 23,40	96,50 ± 27,20*

*P<0.05 et ** : P<0.01 ; n = 3 à 24

Tableau 27 : *Effet de l'huile essentielle sur la pression intra-trachéale de cobayes.* ***[76]***

HE en µL/kg	élévation de la PIT en mmHg	durée de l'effet en sec.
4	0,4 ± 0,2	6,5 ± 3,6
8	1,8 ± 0,2*	30,4 ± 4,8*
16	2,9 ± 0,2*	57,4 ± 6,9*
32	3,6 ± 0,8*	51,0 ± 2,8*

*P<0,05 et ** : P<0,01 ; n = 4 à 24

❖ **La thymoquinone** ne modifie par la FR par contre elle induit une bronchoconstriction puissante et une augmentation de la PIT, toutes deux de façon dose-dépendante (aux doses de 1,6 à 6,4 mg/kg i.v.).

5.2.3 Discussion

L'HE augmente la FR et la PIT chez l'animal.
Les auteurs concluent que l'HE agirait ainsi sur la respiration par libération d'histamine et activation des récepteurs H_1 et des récepteurs muscariniques M3 dans le système nerveux et dans les structures périphériques impliquées dans la régulation de la respiration. L'effet ne ferait pas intervenir la libération d'éicosanoïdes ou de PAF (facteur d'activation plaquettaire).
L'élévation de la PIT par l'HE serait due à d'autres composés que la TQ comme par exemple les monoterpènes.
Et la bronchoconstriction provoquée par l'HE serait due principalement à la présence de TQ.
Cette étude est très contradictoire à plusieurs niveaux :
- la bronchoconstriction est en opposition avec un effet anti-asthmatique et avec la bronchodilatation observée par action de la TQ sur le muscle isolé de la trachée de cobaye. **[16]**
- nous allons voir ci-dessous que la Nigelle a montré dans deux études son effet antihistaminique H_1

Cette bronchoconstriction provoquée par la TQ peut entraîner de gros problèmes si la TQ est utilisée directement en essai clinique chez l'homme ; il serait important d'approfondir cette observation.

5.3 Action sur la libération d'histamine

La Nigelle est traditionnellement utilisée dans les problèmes allergiques.
En 1993 **[53]** Chakravarty avait étudié *in vitro*, l'effet de la nigellone sur la libération d'histamine.

5.3.1 Les tests

- **Objectifs :**
  L'auteur évalue l'action de la nigellone sur la libération d'histamine par les mastocytes de péritoine de rat stimulés par différents agents : antigène, composé 48/80 et ionophore calcique A23187.

- **Mécanisme d'action :**
  L'auteur envisage 2 mécanismes :
  - L'inhibition de la protéine kinase C : la stimulation de la protéine kinase C par l'ester de phorbol ou par le diacylglycérol crée une libération de l'histamine par les mastocytes. L'auteur observe un éventuel effet inhibiteur de la nigellone sur cette libération.
  - L'effet de la nigellone sur le transport calcique.

5.3.2 Résultats

- **La libération d'histamine** est inhibée par la nigellone dans les 3 cas avec les CI_{50} suivantes :
  - 11 µg/ml avec l'antigène comme stimulant
  - 15 µg/ml avec le composé 48/80
  - entre 15 et 26 µg/ml avec le ionophore calcique

  La nigellone est donc active à faible concentration et a une action moindre avec le ionophore calcique.

- **Inhibition de la protéine kinase C par la nigellone :** la stimulation de la protéine kinase C par l'ester de phorbol ou par le diacylglycérol : la nigellone (10 µg/ml) inhibe la libération d'histamine de 64% et de 39% avec chacun des agents stimulants respectivement.

- **Effet sur le transport calcique** : la nigellone inhibe l'assimilation intracellulaire des ions Ca^{2+} de 20 à 40% (aux doses de 25 à 100 µg/ml) et stimule l'influx de 9 à 27% pour des doses allant de 50 à 100 µg/ml. ($P<0,05$ à 0,02)

5.3.3 Discussion

La nigellone inhibe *in vitro* la libération d'histamine par les mastocytes de rats en inhibant la protéine kinase C et en facilitant le transport des ions calciques.
D'autres travaux effectués en 2000 **[45]** par Boskabady montrent l'effet inhibiteur des extraits aqueux sur les récepteurs histaminiques H_1 de trachée isolée de cobaye.
Au vu de ces résultats, la nigellone semble effectivement avoir une action antihistaminique H_1, mais sa teneur est mal connue et si elle était présente en concentration suffisante elle pourrait expliquer l'intérêt de la prise de graines ou d'huile de Nigelle dans les problèmes allergiques.
Cet effet antihistaminique H_1 est généralement reconnu par les chercheurs alors que l'étude vue

précédemment est en contradiction. Il serait nécessaire d'évaluer plus précisément la teneur en nigellone. **[76]**

5.4 Action antitussive

5.4.1 Protocole

Lors de cette étude réalisée en 2004 **[43]**, les auteurs ont observé l'effet d'aérosols à base **d'extrait aqueux** de graines de Nigelle (3,3% et 5% en poids/poids), de **macérat aqueux** (mêmes concentrations) et d'une décoction (5%), sur la toux produite chez des cobayes par inhalation d'un aérosol à l'acide citrique 10 minutes après celle des produits testés.
L'effet a été mesuré en comptant le nombre d'accès de toux pendant 5 minutes, ceci en comparaison d'un témoin positif : la codéine (0,03 g/ml).

5.4.2 Résultats

Toutes les concentrations testées diminuent fortement le nombre d'accès de toux avec un effet antitussif de l'extrait aqueux et de la macération comparable à celui de la codéine aux doses supérieures utilisées.
Le mécanisme d'action n'est pas étudié ici mais l'effet antitussif pourrait être lié :

- aux propriétés bronchodilatatrices
- à l'effet sur les récepteurs aux opioïdes vu précedemment. Cette activité, retrouvée avec l'huile et la TQ semblait provenait de la TQ et il n'est donc pas certain que nous la retrouvions avec l'extrait aqueux.

5.5 Conclusion

Il a été montré l'effet relaxant sur le muscle trachéal du cobaye par les différents principes de la Nigelle (extraits aqueux et alcoolique, huile, HE et TQ).
Une étude **[76]** montre un effet bronchoconstricteur passager de l'HE sur le muscle bronchique du cobaye dû certainement à la présence de TQ, avec augmentation de la fréquence respiratoire et de la pression intra trachéale. Les auteurs avaient conclu par un effet stimulateur des récepteurs histaminiques H_1 et muscariniques M3.

Ceci est en désaccord avec le fait que :

- la nigellone inhibe la libération d'histamine par les mastocytes **[53]**
- l'extrait aqueux est relaxant pour la trachée isolée de cobaye par effet antihistaminique H_1. **[45]**
- chez le cobaye ou le lapin, la TQ, l'HE, les extraits aqueux, méthanolique et à l'éther de pétrole montrent tous un effet relaxant du muscle isolé de la trachée.

L'huile a un effet bronchodilatateur alors que la TQ est responsable d'une bronchoconstriction. Il faut rappeler que la TQ est présente à hauteur de 0,15% dans l'huile et à moins de 0,1% dans la graine. Donc l'effet bronchoconstricteur de la TQ (si il y a) ne pourra se manifester visiblement. Ceci nécessite des travaux complémentaires.

Si l'effet relaxant bronchique était montré, ceci confirmerait l'intérêt de la prise de graines ou d'huile de Nigelle dans l'asthme car elle agirait sur les différents phénomènes de la pathologie, à savoir :

- sur le bronchospasme qui est l'événement premier
- sur la phase inflammatoire qui suit le bronchospasme
- sur l'amélioration de la fréquence respiratoire
- sur la composante allergique par effet antihistaminique.

Il est nécessaire d'approfondir les études car pour l'huile, seuls ses effets bronchodilatateurs ont été étudiés.

6 Actions sur le système digestif

La Nigelle est traditionnellement utilisée pour soigner les ulcères gastriques, les coliques, les spasmes abdominaux et les problèmes de digestion en général.

6.1 Muqueuse gastrique

6.1.1 Les tests

L'ulcération est provoquée expérimentalement chez le rat de différentes manières :

- **Par l'acide acétylsalicylique** (AAS) : il est administré par v.o. (200 mg/kg). (**[6]** 1996)
  Produit testé : l'extrait aqueux par v.o. : 2 g/kg/jour, 3 heures avant et 3 heures après l'AAS pendant 3 jours.
- **Par l'éthanol à 50%** : dose unique par v.o. de 1 ml. (**[64]** 2000)
  Produit testé : l'huile de Nigelle préventivement par v.o. (0,88 g/kg/jour) 2 semaines avant.
- **Par ischémie/reperfusion** (I/R) : en plus de l'ulcère ce test crée une forte production de radicaux libres et permet d'étudier la contribution de l'effet antioxydant sur la gastroprotection. (**[63]** 2003)
  Produits testés : la TQ et l'huile par v.o., à différentes doses, 30 minutes avant I/R.

Aucun témoin positif n'a été utilisé.

Ensuite la muqueuse gastrique est observée et le suc gastrique récolté et analysé.
Sont évalués :

- L'incidence de l'ulcère et l'index d'ulcère
- L'activité peptique, la quantité de suc gastrique
- La production d'acide, l'activité de la mucine,
- La teneur en histamine dans la muqueuse gastrique (facteur agressif)
- Concernant le stress oxydatif : évaluation de la péroxydation lipidique et du GSH dans la muqueuse gastrique ; activité de la SOD et de la lactate déshydrogénase.

6.1.2 Les résultats

❖ **Extrait aqueux [6]**

- En absence d'ulcère, l'extrait augmente déjà significativement l'activité peptique.
- Sur l'ulcère provoqué par AAS :
  - il permet de réduire de 36% (n.s.) l'index d'ulcération par rapport au groupe contrôle non traité.
  - il réduit l'activité peptique et la sécrétion acide (fortement élevés lors d'ulcère) mais n'a pas d'effet sur l'activité de la mucine par rapport au groupe non traité.

➢ Nous voyons ici que l'extrait aqueux n'est que légèrement protecteur et qu'il ne contient certainement pas les substances actives lui permettant d'être gastroprotecteur.

❖ **Thymoquinone [63]**

L'effet de l'administration par voie orale de différentes doses de TQ, 30 minutes avant l'I/R est observé au bout d'une heure et de 24 heures. Il est résumé dans le ***tableau 28***.

- La TQ (5 et 20 mg/kg) améliore l'index d'ulcère de 85,2 à 90,9% par rapport au groupe non traité ($P<0,05$).
- Aux doses supérieures : (50 et 100mg/kg), l'effet protecteur est inférieur avec une élévation du taux de mortalité au bout de 24 heures.
- La TQ limite la péroxydation lipidique de la muqueuse gastrique et la déplétion en GSH et SOD dès la 1ère heure aux doses de 5 ; 20 ; 50 et 100 mg/kg, et aux doses de 5 et 20 mg/kg au bout de 24 heures. ($P<0,05$).
  Au bout de 24 heures la TQ restaure le taux initial de péroxydation lipidique.

➢ La TQ améliore donc l'ulcère provoqué par I/R chez le rat, en partie grâce à son action antioxydante. Mais d'autres mécanismes d'action peuvent aussi être impliqués.

Tableau 28 : *Effet de l'huile de Nigelle et de la thymoquinone sur la lésion de la muqueuse gastrique 1 et 24 heures après ischémie/reperfusion chez le rat.* ***[63]***

traitement	INDEX D'ULCERE			
	1 heure après I/R		24 heures après I/R	
contrôle	0		0	
I/R contrôle	28,00 ± 4,56*		28,14 ± 2,67*	
huile 2,5 ml/kg	4,60 ± 0,37**	83,57%	3,00 ± 0,43**	89,34%
huile 5 ml/kg	2,00 ± 0,25**	92,80%	1,83 ± 0,31**	93,50%
TQ 5 mg/kg	3,00 ± 0,83**	89,28%	3,29 ± 0,36**	88,31%
TQ 20 mg/kg	4,14 ± 0,34**	85,20%	2,56 ± 0,24**	90,90%
TQ 50 mg/kg	6,00 ± 0,92*	78,57%	nd	
TQ 100 mg/kg	14,43 ± 0,95*	48,60%	nd	

nd : valeurs non données ; n = 6 à 8
*** :** significativement différent du groupe contrôle, P<0,05
** : significativement différent du groupe I/R, P<0,05

❖ **Huile**

- Sur l'ulcère provoqué par I/R, l'huile améliore les paramètres du stress oxydatif (GSH et SOD) de façon significative au bout de 24 heures seulement. (P<0,05) (voir ***tableau 28***)
  Aux 2 doses testées, elle réduit l'index d'ulcère de 83,57 à 93,5% (P<0,05) **[63]**
  L'huile par son action antioxydante diminue les lésions ulcéreuses, mais nous allons voir que d'autres mécanismes interviennent.

- Dans l'ulcère provoqué par l'éthanol, le pré-traitement par l'huile de Nigelle réduit de moitié l'index d'ulcère tout en augmentant le taux de mucine et d'acide libre et en réduisant la teneur en histamine et en GSH tissulaire. L'activité peptique n'est pas modifiée.
  Nous remarquons que l'huile administrée seule réduit déjà significativement la teneur en histamine et augmente celle de GSH. **[64]**

➢ L'huile de Nigelle exerce une action gastroprotectrice de différentes manières :
  - Action sur l'histamine : celle-ci est un facteur agressif pour les muqueuses, reconnu pour participer à la génération de l'ulcère
  - Action sur la mucine : la Nigelle élève la teneur de ce composant principal du mucus protecteur de la muqueuse gastrique
  - Augmentation du GSH : il a été montré que sa déplétion entraînait des lésions de la muqueuse gastrique
  - Réduction du stress oxydatif.

6.1.3 Discussion

L'extrait aqueux est peu actif en tant que gastroprotecteur ; mais rappelons que les graines ne sont pratiquement pas utilisées sous cette forme dans la médecine traditionnelle et la réputation de la plante dans les problèmes d'ulcère repose certainement sur l'ingestion de l'huile ou des graines.
En effet, l'huile et la TQ ont montré chez le rat une propriété anti-ulcéreuse intéressante par différents mécanismes :
- Action antioxydante
- Augmentation de la sécrétion de mucine protectrice
- Baisse de la teneur en histamine tissulaire

La quantité de TQ contenue dans 5 ml d'huile est environ de 6,9 mg ce qui apporte 93,5% d'amélioration au bout de 24h alors que la TQ à la dose de 5 mg/kg entraîne une amélioration de 88,31%. L'activité antiulcéreuse de l'huile correspond à peu près à celle attendue par sa teneur en TQ. Mais d'autres de ses constituants pourraient aussi participer à cette action. Les acides gras polyinsaturés, par leur interaction avec le métabolisme de l'acide arachidonique peuvent conduire à la biosynthèse de prostaglandines cytoprotectrices. **[63]**

6.2 Colite

6.2.1 Protocole ([122] 2003)

- **Induction de la colite chez le rat** : par injection intra-colonique d'une solution d'acide acétique à 3%.
- **Produit testé** : la TQ dissoute dans le propylène glycol par v.o. : 5 et 10 mg/kg/jour pendant 3 jours
- **Témoin positif** : la sulfasalazine (500 mg/kg), un anti-inflammatoire.
- **L'évaluation** se fait par :
  - l'histopathologie : score lésionnel et pourcentage de protection
  - la mesure de l'activité de la myélopéroxydase (index de l'inflammation de certains tissus) et de la teneur en GSH tissulaire
- **Le mécanisme d'action** est étudié par identification des médiateurs amenant à l'inflammation aiguë du colon : mesure de la teneur en PAF et histamine dans la biopsie rectale.

6.2.2 Résultats

- L'acide acétique induit chez le rat : nécrose, œdème des muqueuses et infiltrations cellulaires ainsi qu'une déplétion en GSH, et une augmentation de la teneur en PAF et en histamine.
- Alors que la sulfasalazine et la TQ à la dose de 5 mg/kg/jour ne réduisent que partiellement les lésions ; la TQ à la dose de 10 mg/kg/jour entraîne une correction totale des phénomènes histopathologiques induits par l'acide acétique.
  Ceci est confirmé par la mesure de l'activité de la myélopéroxydase qui est significativement abaissée mais non restaurée par la TQ au dosage supérieur (P<0,05).
- L'identification des médiateurs montre l'efficacité de la TQ à réduire les lésions tissulaires via l'inhibition de la libération d'histamine et de PAF ainsi que la préservation du taux de GSH intracellulaire ; dans les 3 cas son effet est significativement supérieur à celui de la sulfasalazine (P<0,05).

Tableau 29 : *Effet de la thymoquinone en pré-traitement par voie orale sur la colite induite par l'acide acétique chez le rat.* ***[122]***

pré-traitement et dose	inducteur	score lésionnel	% protection
sol.saline 5 ml/kg	sol.saline	0	—
sol.saline 5 ml/kg	ac.acétique	4,00 ± 0,00	—
propylène glycol 5 ml/kg	sol.saline	0,16 ± 0,17	—
sulfasalazine 500 mg/kg	ac.acétique	1,67 ± 0,33*	58
thymoquinone 5 mg/kg	ac.acétique	2,20 ± 0,37*	45
thymoquinone 10 mg/kg	ac.acétique	0,33 ± 0,21*#	92

n = 6
***** : significativement différent du groupe "sol.saline + acide acétique" avec P<0,05
# : significativement différent du groupe "sulfasalazine + acide acétique" avec P<0,05

6.2.3 Discussion

La TQ en pré traitement améliore très nettement la colite induite par l'acide acétique chez le rat en inhibant la libération d'histamine et de PAF et par action antioxydante.
A la dose de 10 mg/kg son effet contre la colite est supérieur à celui de la sulfasalazine (500 mg/kg).

6.3 Action sur le muscle jéjunal

6.3.1 Protocole ([89] (2001)

- **Objectifs :** effets de l'extrait aqueux/méthanolique (EAM) et de l'extrait à l'éther de pétrole (EEP) sur la contraction spontanée et sur celle induite par une solution riche en K^+ du muscle du jéjunum isolé de lapin.
  Le témoin positif est le vérapamil, un inhibiteur calcique.

- **Mécanisme d'action :** Les auteurs recherchent un effet inhibiteur calcique car la contraction spontanée de nombreux muscles lisses est dépendante du cycle de polarisation/dépolarisation crée par influx rapide de Ca^{2+} dans la cellule via les canaux calciques.

6.3.2 Résultats

- L'EAM et l'EEP inhibent la contraction spontanée du jéjunum.
- La contraction induite par une solution riche en K^+ est inhibée par les 2 extraits de façon dose-dépendante et l'activité de l'EEP est 10 fois supérieure à celle de l'EAM (idem pour l'inhibition de la contraction spontanée).
- Aux doses testées, le vérapamil montre un effet comparable aux extraits.

➢ Ces résultats montrent une probable propriété relaxante par antagonisme calcique.
L'EEP semble concentrer la substance responsable de l'effet. On pourra assimiler l'effet de l'EEP à celui de l'huile et considérer que celle-ci est plus active que l'EAM.

6.3.3 Discussion

La Nigelle induit une relaxation du jéjunum isolé de lapin par effet inhibiteur calcique.
Ceci pourrait confirmer l'intérêt de la prise d'huile de Nigelle dans les spasmes intestinaux et les coliques.

6.4 Action hépatique

Une très ancienne étude (**[121]** 1964) montrait l'effet cholérétique (augmentation de la production de bile) de l'huile de Nigelle chez le chien anesthésié, avec un maximum atteint 1h30 après l'injection.
Un tel effet améliore la digestion en général et plus particulièrement celle des graisses.

6.5 Conclusion

Ces études chez l'animal *in vivo* et *in vitro* pourraient confirmer l'usage de la Nigelle lors d'affections gastro-intestinales comme les ulcères ; les spasmes intestinaux lors de diarrhées ou parasitoses ; ou tout simplement la mauvaise digestion.
Mais nous ferons deux remarques :

➢ L'huile a montré chez l'animal un effet antiulcéreux gastrique, antispasmodique et cholérétique.
Concernant la colite, seule la TQ a été testée et nous ignorons si sa teneur dans l'huile ou dans la graine est suffisante pour que celles-ci possèdent une activité intéressante. Nous pouvons tout de même dire que leurs effets antioxydants contribueront à atténuer les lésions ulcéreuses.

➢ Les graines, qui vont contenir les substances extraites par l'eau et par l'alcool, et l'huile auront une action antiulcéreuse gastrique et antispasmodique au moins partielle. Reste à savoir si ces effets seront significatifs.

7 Action hypoglycémiante

La graine de Nigelle est traditionnellement employée pour traiter le diabète.
Les travaux ont montré l'effet sur la glycémie chez différents modèles animaux rendus expérimentalement diabétiques (diabète gras) : hamsters, rats et lapins.

7.1 Les protocoles

- Le diabète peut être induit par:
  - La streptozotocine (STZ) chez le hamster (**[79] [80]** 2002) et le rat (**[112]** 2004 ; **[113]** 2003 ; **[65]** 2002).
  - L'alloxane chez le lapin (**[130]** 2001 ; **[129]** 2003).
- **Les évaluations sont:**
  - Le dosage de la glycémie et de l'insulinémie
  - L'immunohistochimie : marquage de l'insuline des îlots de Langerhans par des anticorps anti-insuline monoclonaux.
  - L'histopathologie
  - Le dosage de l'hémoglobine glycosylée : marqueur de l'équilibre à long terme de la glycémie **[79]**
- **Le mécanisme d'action** est étudié par
  - L'évaluation de l'action antioxydante : dosage de MDA sérique, activité de la SOD, de la glutathion péroxydase, de la catalase...
  - L'effet sur la néoglucogenèse hépatique : des hépatocytes isolés de hamster sont mis en incubation avec différents précurseurs de la néoglucogenèse (alanine, glycérol, lactate) en présence ou absence de Nigelle. **[79]**
  - L'effet de la Nigelle sur la libération d'insuline induite par le glucose par des îlots de Langerhans isolés de rats **[65]**
  - L'observation de la sensibilisation des hépatocytes isolés de rats *in vitro* à l'action de l'insuline : on évalue l'effet de la Nigelle à la réponse à l'insuline de 2 kinases connues pour être impliquées dans l'activation de la glycogénogénèse hépatique. (**[120]** 2004)
- **Les doses administrées sont:**
  - **L'extrait aqueux :**
    Chez le lapin rendu diabétique par l'alloxane : 20 ml/kg/jour par v.o. pendant 2 mois après induction du diabète. **[129] [130]**
  - **L'huile essentielle :**
    - Chez des rats rendus diabétique par la STZ : 0,2 ml/kg/jour en injection i.p. 30 jours après induction du diabète et pendant 30 jours : **[112]** ; ou 3 jours avant et pendant 4 semaines : **[113].**
    - Chez des hamsters rendus diabétiques par STZ + nicotinamide : 400 mg/kg/jour par v.o., 4 semaines après induction du diabète et pendant 4 semaines. **[80]**
  - **L'huile :**
    - Chez des hamsters rendus diabétiques par STZ : 400 mg/kg/jour par v.o., 6 semaines après induction du diabète et pendant 4 semaines **[79]**
    - Chez des rats rendus diabétique par la STZ : 0,4 g/kg/jour par v.o., 6 semaines après induction du diabète et pendant 6 semaines **[65]**
    - On évalue l'effet de la sensibilisation à l'insuline d'hépatocytes isolés de rat auparavant traités par l'extrait à l'éther de pétrole (l'équivalent de 2 g/kg/jour de poudre par v.o. pendant 4 semaines). **[120]**.
  - **la thymoquinone et la nigellone :**
    On teste leurs effets sur la libération d'insuline induite par le glucose par des îlots de Langerhans isolés de rats. **[65]**

7.2 Les résultats

7.2.1 Les différents extraits

❖ **L'extrait aqueux [129] [130]**

- Il permet de réduire la glycémie significativement ; cependant l'effet est insuffisant et la glycémie reste relativement élevée :
  - groupe contrôle : 96,32 mg/dl
  - groupe diabétique : 340,43 mg/dl ; (P<0,05) par rapport au contrôle
  - g.diabét. traité par la Nigelle : 194,41mg/dl ; (P<0,05) par rapport aux 2 autres groupes.
- L'extrait permet de restaurer les taux sanguins de GSH et MDA initiaux.
- L'étude histopathologique montre une disparition des lésions hépatocytaires grâce à la Nigelle ; par contre l'histopathologie du pancréas n'est pas améliorée.

  ➢ L'extrait aqueux par voie orale donne une amélioration très partielle du diabète induit par l'alloxane chez le lapin. Son intérêt réside surtout dans son action antioxydante vis-à-vis des lésions parallèles générées par le diabète.

❖ **L'huile essentielle [80] [112] [113]**

- Chez le rat et le hamster l'HE réduit très significativement la glycémie et augmente l'insulinémie.
- L'étude immunohistochimique montre de larges plages d'immunoréactivité positive à la présence d'insuline dans les îlots pancréatiques, dans les groupes traités par la Nigelle par rapport aux groupes diabétiques non traités, respectivement : 80% contre 18% chez le hamster et 37,13% contre 3,84% chez le rat après 4 semaines.
- L'examen histopathologique révèle une nette amélioration des lésions pancréatiques avec une régénération partielle des îlots dans les groupes traités par la Nigelle.
- Enfin l'HE améliore le stress oxydatif avec baisse du MDA tissulaire et augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes.

  ➢ L'HE exerce une action hypoglycémiante chez le rat et le hamster porteurs d'un diabète gras. Elle agit en partie par une régénération/prolifération partielle des cellules β des îlots de Langerhans (ce qui augmente l'insulinémie) et par son effet antioxydant.

❖ **L'huile**

- Chez le rat et le hamster, la glycémie est très diminuée par administration de l'huile (taux réduit de moitié au bout de 4 semaines par rapport aux groupes diabétiques non traités). **[65] [79]**
- Ceci s'accompagne d'une baisse de l'hémoglobine glycosylée : son taux est de 5,9% ; 17,3% et 12,1% respectivement pour les groupes contrôle, diabétique non traité, et diabétique traité par la Nigelle (P<0,01).
- Concernant la néoglucogenèse hépatique *in vitro* : par rapport au groupe non traité, l'huile réduit significativement la quantité de glucose produite à partir de l'alanine, du glycérol et du lactate avec P<0,001 pour les 2 premiers et P<0,05 pour le dernier. **[79]**
- L'huile n'a aucun effet sur la libération d'insuline induite par le glucose par des îlots de Langerhans isolés de rats **[65].**
- Par contre on note une sensibilisation des hépatocytes à l'action de l'insuline *in vitro* chez les rats traités auparavant par l'EEP ; avec une activation dose-dépendante très supérieure des 2 kinases (impliquées dans l'activation de la glycogénogénèse hépatique) par l'insuline par rapport au groupe contrôle non traité par la Nigelle. **[120]**

  ➢ L'huile réduit significativement la glycémie chez les rats et hamsters diabétiques.
  Et d'après l'étude réalisée *in vitro* **[65],** l'huile ne semble pas favoriser la libération d'insuline par les îlots de Langerhans. Elle agirait donc plutôt par action extra pancréatique, notamment par inhibition de la néoglucogenèse hépatique et par sensibilisation des hépatocytes à l'action de l'insuline.
  Or nous avions vu précedemment que l'HE *in vivo* permettait une régénération des îlots de Langerhans et donc une augmentation de la libération d'insuline.
  Rappelons qu'il est toujours difficile de comparer des résultats obtenus *in vivo* et *in vitro* et très certainement, plusieurs mécanismes d'actions expliquent l'effet hypoglycémiant.

❖ **La thymoquinone et la nigellone [65]**
Elles n'ont aucun effet sur la libération d'insuline induite par le glucose par des îlots de Langerhans isolés de rats. Leurs effets sur la glycémie n'ont pas été étudiés.

7.2.2 Les mécanismes d'action

Les mécanismes d'action impliqués seraient donc:
- une régénération des îlots de Langerhans et une augmentation de la libération d'insuline (HE)
- une inhibition de la néoglucogenèse hépatique (huile)
- une augmentation de la sensibilité des hépatocytes à l'action de l'insuline (EEP)
- une diminution du stress et des lésions oxydatives (extrait aqueux, HE)

7.2.3 Discussion

L'HE et l'huile réduisent la glycémie chez l'animal porteur d'un diabète gras (l'activité de l'extrait aqueux est moindre).
Si l'effet hypoglycémiant de ces 2 extraits est incontestable, des différences apparaissent dans leurs mécanismes d'action, car d'après les travaux nous faisons les constatations suivantes :

➢ l'HE réduit la glycémie par un effet pancréatique : en régénérant les îlots pancréatiques de Langerhans et en augmentant l'insulinémie.
Ses effets extra pancréatiques n'ont pas été étudiés et pourraient se rajouter.

➢ L'huile réduit la glycémie et :
- inhibe la néoglugénogénèse hépatique *in vitro*
- elle n'augmente pas la libération d'insuline par les îlots pancréatiques de Langerhans isolés stimulés par le glucose
- l'EEP qui extrait l'huile, sensibilise *in vitro* les hépatocytes à l'insuline

Donc l'huile agirait essentiellement par des mécanismes extrapancréatiques ; mais cette constatation repose uniquement sur des travaux *in vitro* donc il serait nécessaire :
- de faire une étude immunohistochimique sur l'animal diabétique traité par l'huile de Nigelle et de doser l'insulinémie
- d'étudier les possibles effets extrapancréatiques de l'HE.

Les graines, par leur teneur en huile auront certainement une action hypoglycémiante moindre.

7.3 Chez les animaux non diabétiques

Il a été observé une baisse de la glycémie chez des animaux non diabétiques suite à l'administration de Nigelle.

❖ **L'huile**

- Chez les rats non diabétiques l'administration par v.o. de 1 ml/kg/jour d'huile pendant 12 semaines fait diminuer la glycémie de 16,5% par rapport au groupe contrôle non traité. (P<0,05) **[168]**
La baisse est déjà significative au bout de 8 semaines.

- Chez des rats non diabétiques l'administration par v.o. de l'équivalent en EEP de 2 g/kg/jour de poudre de graine de Nigelle pendant 4 semaines ne modifie pas significativement la glycémie.
Mais, ces 4 semaines d'administration sont peut-être insuffisantes pour observer l'effet hypoglycémiant. **[120]**

❖ **Autres extraits**

- Néanmoins, suite à une dose par v.o. de 215 mg/kg d'EEP ou de 645 mg/kg de poudre ou de 160 mg/kg d'extrait alcoolique au rat, on observe sur la glycémie à jeun, post-prandiale (2 heures après le repas) et 2 heures après ingestion de glucose (1 mg/g de poids corporel) :
  - aucune action significative sur la glycémie à jeun avec les 3 extraits
  - pas de baisse significative de la glycémie post-prandiale avec les 3 extraits
  - 2 heures après ingestion de glucose réduction significative de la glycémie avec l'EEP (P<0,01) et la poudre (P<0,001) par rapport au groupe contrôle. L'extrait alcoolique n'a pas d'effet. **[18]**

Discussion

- Chez le rat non diabétique la prise par voie orale unique de l'EEP (huile), de la poudre ou de l'extrait alcoolique ne modifie pas la glycémie. Idem pour la prise par voie orale d'EEP pendant 4 semaines.
  Mais il a été montré une réduction de la glycémie chez le rat non diabétique après prise par v.o. d'huile en continu pendant 12 semaines. L'effet devenait significatif au bout de 8 semaines.
- Donc, visiblement la prise prolongée de graines de Nigelle (supérieure à 4 semaines) peut faire apparaître des modifications de la glycémie chez le rat sain.
- Si ceci se révélait en essai clinique chez l'homme sain, cela représenterait un inconvénient important à la prise de graines ou d'huile de Nigelle.

7.4 Actions complémentaires

Voici les effets de la Nigelle sur certains risques associés au diabète.

- **Action sur les cellules du sang**

L'extrait aqueux de graines de Nigelle a été donné par v.o. à des lapins rendus diabétiques par l'alloxane à la dose de 20 ml/kg pendant 2 mois. (**[129]** 2004, Turquie) A l'issue de cette période, le dosage des différentes lignées cellulaires du sang montre que la Nigelle permet de prévenir les baisses des taux de globules blancs, globules rouges, de neutrophiles et de monocytes causés par le diabète.
Les neutrophiles représentant la 1ère ligne de défense du corps face aux bactéries, l'extrait aqueux de Nigelle semble intéressant pour améliorer les défenses des sujets diabétiques face aux infections.

- **Action cardiovasculaire**

La même étude a évalué l'effet de cet **extrait aqueux** sur la fréquence cardiaque des lapins diabétiques.
Celle-ci était fortement élevée chez les sujets diabétiques par rapport aux sujets normaux : 268 battements/minutes contre 184. L'extrait de Nigelle ramenait cette fréquence à 205 battements/minutes.
Nous avons également vu que la Nigelle avait une action hypolipémiante ; ces 2 propriétés combinées encouragent l'utilisation de la Nigelle pour diminuer les risques d'affections cardiaques, majorés par le diabète.

8 Actions cardiovasculaires et sur les paramètres du sang

La Nigelle a traditionnellement été utilisée pour traiter l'hypertension, l'excès de cholestérol et pour stopper les saignements de nez.

8.1 Action sur la tension et la fréquence cardiaque

8.1.1 Les tests

- **Effets des différents extraits**

On observe l'effet de la Nigelle sur la pression artérielle (PA) ou la fréquence cardiaque (FC) de rats anesthésiés ou non à l'uréthane.
Les différents extraits sont:

- ❖ L'HE et la TQ en injection i.v. à des rats anesthésiés à l'uréthane normo tendus (doses respectives de 4 à 32 µL/kg et de 0,2 à 1,6 mg/kg) (**[75]** 1993)
- ❖ L'HE privée de TQ en injection i.v. à des rats non anesthésiés (2 à 16 µL/kg) (**[73]** 2003)
- ❖ L'α-pinène et le para-cymène en injection i.v. à des rats non anesthésiés (doses respectives de 1 à 4 µL/kg et de 2 à 16 µL/kg). **[73]**
- ❖ L'extrait dichlorométhanolique par v.o. à des rats hypertendus (0,6 ml/kg/jour pendant 15 jours) avec comme témoin positif la nifédipine, inhibiteur calcique (5 mg/kg/jour) (**[169]** 2000)

- **Les mécanismes d'action**
  - Action par mécanisme central : observation de l'effet de la destruction neuronale (entre les neurones adrénergiques de la moelle et les neurones sympathiques pré ganglionnaires) **[73] [75]**
  - Récepteurs en jeu : observation de l'effet de différents agents bloquants de récepteurs ou inhibiteurs de synthèse sur les actions cardiovasculaires de la Nigelle. **[73] [75]**
  - Action diurétique modérée : témoin positif le furosémide **[169]**
  - Action relaxante sur le muscle vasculaire (**[4]** 1992)

8.1.2 Les résultats

❖ **La thymoquinone**

La TQ entraîne une baisse dose-dépendante de la PA et de la FC par action centrale cholinergique et sérotoninergique chez les rats normo tendus anesthésiés à l'uréthane **[75]**.

❖ **L'huile essentielle**

- **Effet de l'HE sur des rats normo tendus anesthésiés à l'uréthane [75] :**
  L'HE entraîne une baisse dose-dépendante de la PA et de la FC.
  Elle agit par mécanisme central, par stimulation directe et indirecte des récepteurs cholinergiques et sérotoninergiques.
  Son mécanisme d'action n'implique pas la libération d'éicosanoïdes, d'histamine, de PAF ou le blocage des canaux calciques.
  Nous remarquons que les doses de TQ utilisées pour conduire au même effet hypotenseur et bradycardisant sont bien plus importantes que celles contenues dans les différentes doses d'HE testées.
  Donc comme nous allons le voir ci-dessous, la TQ n'est certainement pas le seul facteur contribuant à l'effet dépresseur sur le système cardiovasculaire.

- **Effet de l'huile essentielle privée de thymoquinone, de l'α-pinène et du p-cymène sur des rats normo tendus non anesthésiés [73] :**
  L'HE privée de TQ, l'α-pinène et le p-cymène induisent une baisse dose-dépendante de la TA et de la FC et agissent en partie, par mécanisme central : action cholinergique et sérotoninergique.

- **Effet sur le muscle vasculaire [4]**
  Un effet relaxant sur le muscle vasculaire pourrait participer à l'effet hypotenseur de la Nigelle.
  Dans une étude réalisée sur le lapin, l'HE inhibe les contractions induites par la nor-épinéphrine des anneaux aortiques isolés, par effet inhibiteur calcique.
  Or nous avons vu plus haut que l'effet de l'HE sur la PA et la FC ne provenait pas d'un effet inhibiteur calcique. Donc, soit les contradictions obtenues viennent de la variation de la

composition de l'HE ou alors cet effet relaxant sur le muscle vasculaire par effet inhibiteur calcique est insuffisant pour entraîner une baisse de la FC et de la PA.

❖ **L'huile**

- Chez le rat, l'huile (1 à 2 ml/kg/jour en i.p. pendant 14 jours) supprime l'hypertension induite par un agoniste des récepteurs α_1-adrénergiques (la phénylépinéphrine) et potentialise l'hypotension induite par l'isoprénaline (activateur des récepteurs β_2-adrénergiques).
  Donc l'huile pourrait agir en désensibilisant les récepteurs α_1-adrénergiques et en activant les récepteurs β_2-adrénergiques. **[74]**
- Chez le rat hypertendu **[169]** l'extrait dichlorométhanolique (EDCM) qui permet d'extraire l'huile, abaisse la pression artérielle moyenne de 22% et de 18% pour la nifédipine par rapport aux rats contrôle non traités (P<0,001). L'effet de l'EDCM est significativement supérieur à celui de la nifédipine (P<0,05).
- L'observation des effets de l'EDCM sur la diurèse et l'excrétion urinaire de sodium, potassium, chlorure et urée montre une augmentation de tous les paramètres étudiés, mais ces modifications, bien que significatives restent modérées en comparaison de celles induites par le témoin positif : le furosémide.

➢ L'EDCM entraîne donc chez le rat hypertendu une forte diminution de la pression artérielle accompagnée d'une activité diurétique modérée. Cette dernière serait partiellement responsable de l'effet hypotenseur.

8.1.3 Discussion

L'huile reflétée par l'EDCM est un bon antihypertenseur chez le rat hypertendu avec une activité supérieure à celle de la nifédipine aux doses testées. Un effet diurétique modéré participe à l'action cardiaque de l'huile. Elle agit également en désensibilisant les récepteurs α_1-adrénergiques et en activant les récepteurs β_2-adrénergiques.

L'HE et la TQ sont hypotenseurs et bradycardisants chez le rat normo tendu par une action centrale (mécanismes cholinergiques et sérotoninergiques) et peut être aussi par relaxation du muscle vasculaire.
Ces résultats obtenus chez le rat normo tendu peuvent être réellement gênants s'ils sont retrouvés en essais cliniques, il conviendra donc d'évaluer ce phénomène.

8.2 Action hypolipémiante

8.2.1 Les tests

- ***In vivo*** chez le rat **:** effets sur les lipides sanguins de :
  - ❖ La TQ :
    - chez le rat normal (0,5 ; 1 ; 2 ; 4 ; 6 et 8 mg/kg/jour en i.p.) pendant 1, 4, 7, 10 ou 14 jours (**[36]** 2002)
    - chez le rat en hypercholestérolémie : dose par v.o. de 5mg/kg/jour, administrée 5 jours avant et les 15 jours durant une diète hypercholestérolémiante (**[127]** 2003)**.**
  - ❖ L'huile donnée par v.o. pendant 12 semaines (1 ml/kg/jour) (**[168]** 2002)
  - ❖ L'extrait méthanolique (160 mg/kg/jour), l'extrait à l'éther de pétrole (215 mg/kg/jour) et la poudre de graines (6,4 g/kg/jour), administrés par v.o. pendant un mois (**[18]** 1997)
- ***In vitro*** sur des hépatocytes isolés de souris : effet des alcaloïdes sur les triglycérides sanguins (TG). (**[133] [134]** 2004)**.**

8.2.2 Résultats

- **L'huile**
  Elle entraîne au bout de 12 semaines une baisse de 15,5% et de 22,2% du taux de cholestérol et de TG respectivement par rapport au groupe non traité (P<0,05). **[168]**
  L'EEP entraîne une baisse du cholestérol de 11,5% par rapport au groupe contrôle (P<0,025).
  Il n'agit pas sur les TG. **[18]** Peut être est-ce dû à une durée d'administration insuffisante (1 mois au lieu de 3 pour l'huile).

- **La poudre**
  Elle ne modifie pas le taux de cholestérol par contre elle abaisse le taux de TG de 13,2% par rapport au contrôle (P<0,01). **[18]**

- **L'extrait méthanolique**
  Il entraîne une baisse du cholestérol de 17,4% par rapport au groupe contrôle (P<0,001).
  Il n'agit pas sur les TG. **[18]**

- **Les alcaloïdes**
  Ce sont les seules recherches pharmacologiques portant sur les alcaloïdes.
  4 des alcaloïdes étudiés se montrent aussi puissants que le témoin positif : le clofibrate (médicament normolipémiant) pour réduire le taux de TG : la nigellamine A_1, A_5, B_1 et B_2. **[133] [134]**

- **La thymoquinone**

  - **Chez le rat en hypercholestérolémie [127]**
    Elle réduit significativement l'hypercholestérolémie, l'élévation de LDL et prévient la baisse de HDL et des rapports cholestérol total/HDL et LDL/HDL induits par la diète.
    La TQ n'a ici pas d'effet sur les TG.

  - **Chez le rat normal [36] :**
    La dose de 8 mg/kg s'est révélée être toxique dès la fin de la 1ère semaine.
    Toutes les autres doses modifient les paramètres étudiés à partir de 4 jours d'administration, la prise de TQ pendant un seul jour étant insuffisante à exercer quelque effet (sauf sur les triglycérides : TG) :
    - Pour le cholestérol : effet maximum le 7ème jour à la dose de 1 mg/kg avec une baisse de 54,2% par rapport au contrôle (P<0,001).
    - Pour les TG : effet maximum le 10ème jour à la dose de 6 mg/kg avec une baisse de 47,4% par rapport au contrôle (P<0,001).
    - Pour le taux de LDL : effet maximum le 14ème jour à la dose de 4 mg/kg avec une baisse de 70% par rapport au contrôle (P<0,001).
    - Pour rapport HDL/LDL : effet maximum le 14ème jour à la dose de 0,5 mg/kg avec un taux multiplié par 3 par rapport au contrôle (P<0,01).
    - Pour le rapport HDL/cholestérol total : augmentation de 66,7% au 7ème jour (1 mg/kg) par rapport au contrôle (P<0,001).

    L'élévation des rapports HDL/LDL et HDL/cholestérol total persiste au delà du 14ème jour, d'où l'intérêt de la TQ pour une stabilité à long terme du cholestérol.

8.2.3 Discussion

Nous avons observé les effets des différents extraits sur les lipides sanguins.

- L'huile a une bonne action hypocholestérolémiante et agirait surtout par sa teneur en TQ, en acides gras polyinsaturés et en phytostérols.
  La graine (ou poudre) n'a pas montré ici d'effet hypocholestérolémiant mais ceci est peut être dû à une durée trop brève de l'expérience.
  Les 2 substances permettent aussi de réduire les triglycérides sanguins.
- Par ailleurs la TQ est également bénéfique pour réduire chez le rat les taux de cholestérol, de TG, d'HDL et pour améliorer les rapports cholestérol total /HDL et HDL/LDL. **[36]**
- La seule étude pharmacologique concernant les alcaloïdes montre ici leurs effets hypotriglycéridémiants *in vitro.*

8.3 Action sur l'hémostase

La Nigelle a traditionnellement été utilisée comme hémostatique contre les saignements de nez . Les résultats obtenus suite aux différents travaux sont variables.

8.3.1 Agrégation plaquettaire et taux de plaquettes

- **Tests**
  - L'effet anti-agrégant plaquettaire est observé :
    - *in vitro* sur le plasma extrait de lapin (agent agrégant l'acide arachidonique) (**[77]** 2001) ou de rat (agent agrégant : l'adénosine di-phosphate ADP ou le collagène) (**[2]** 2002).
    - *ex-vivo* sur le sang prélevé de rats auxquels on a auparavant administré de la Nigelle **[2]** :
      - TQ en injection i.p. unique 4 à 20 mg/kg
      - graines par v.o. pendant 4 semaines (de 90 à 540 mg/kg)
      - huile en injection i.p. de 2 ml/kg/jour pendant 14 jours
  - L'effet sur le taux de plaquettes est observé sur le prélèvement sanguin de rats après ingestion d'huile (1 ml/kg/jour pendant 12 semaines). (**[168]** 2002)

- **Résultats**
  - **L'huile**
    - Sur le taux de plaquettes : l'ingestion d'huile par le rat, entraîne au bout de 12 semaines : une baisse de 32,2% par rapport au contrôle non traité (P<0,01). **[168]**
    - Sur l'agrégation plaquettaire induite par l'acide arachidonique :
      - *in vitro :* elle est fortement inhibée par la portion soluble méthanolique de l'huile dans le plasma extrait de lapin **[77]**
      - *ex vivo* chez le rat : elle est inhibée à 57% par rapport au groupe non traité (P<0,01).
  - **La poudre de graines [2]**
    La poudre donnée par v.o. à des rats (de 90 à 540 mg/kg) pendant 1, 2 ou 4 semaines n'a aucun effet sur la réponse *ex-vivo* à l'agrégation plaquettaire induite par le collagène et l'ADP.
  - **La TQ [2]**
    - *ex-vivo* :
      La TQ injectée en i.p. (unique dose de 4 à 20 mg/kg) à des rats 2 à 3 heures avant d'observer son effet sur l'agrégation plaquettaire induite par le collagène ou l'ADP montre :
      - aucun effet anti-agrégant au dessous de la dose de 12 mg/kg
      - la dose de 8 mg/kg révélait déjà une intolérance avec une toxicité de plus en plus marquée aux doses supérieures
      - effet inhibiteur aux doses supérieures à 12 mg/kg.
    - *in vitro*
      La même étude montre que la TQ inhibe de façon irréversible l'agrégation à toutes les doses testées (20, 40 et 100 µg/ml).

- **Discussion**
  - C'est visiblement l'huile qui pourrait altérer l'hémostase chez l'animal de 2 façons :
    - par baisse du taux de plaquettes (obtenu *in vivo*)
    - par un effet antiagrégant plaquettaire (obtenu *ex vivo* chez le rat, et sans doute dû à la présence de TQ).
  - La poudre n'a aucun effet sur l'agrégation plaquettaire *ex vivo.*
  - Une nette inhibition de l'agrégation plaquettaire a été observée :
    - *in vitro* avec la TQ et la portion soluble méthanolique de l'huile (qui concentre la TQ)
    - *ex vivo* avec l'huile et la TQ (mais à des doses déjà toxiques pour le rat : > 12 mg/kg).
  - S'il était retrouvé chez l'homme, cet effet antiagrégant plaquettaire serait un inconvénient et amènerait à respecter des précautions à l'emploi de l'huile de Nigelle.

8.3.2 Coagulation

- **Les tests :**

Les rats sont nourris avec des graines de Nigelle (90 à 540 mg/kg/jour pendant 1, 2 ou 4 semaines), le sang est ensuite collecté et sont mesurés : le temps de prothombine, le temps de thromboplastine partiel activé, le temps de thrombine et le taux de fibrinogène sanguin. (**[15]** 2003)

- **Les résultats**
  On observe un effet transitoire à la fois anticoagulant et coagulant.
  - o L'activité anticoagulante est caractérisée par une élévation du temps de prothombine de 7,8% à la dose de 360 mg/jour après 2 semaines par rapport au groupe contrôle (P=0,012).
  - o L'activité coagulante est caractérisée par (par rapport au groupe contrôle) :
    - une baisse du temps de thromboplastine partiel activé de 16% (dose de 540 mg/kg) après 1 semaine (P=0,018)
    - une baisse du temps de thrombine de 13% (dose de 540 mg/kg) après 1 semaine (P=0,024)
    - une élévation du taux de fibrinogène sanguin de 14% après 4 semaines (à la dose de 180 mg/kg) (P=0,049).

8.3.3 Discussion

- ➢ Chez le rat, la graine de Nigelle a une action transitoire à la fois coagulante et anticoagulante en agissant sur différents facteurs de la coagulation. **[15]**
- ➢ L'utilisation traditionnelle de la graine de Nigelle pour stopper les saignements de nez ne peut être confirmée par ces résultats. Des travaux complémentaires seraient nécessaires car ces effets pourraient être gênants chez l'homme.

8.4 Action sur les paramètres du sang

8.4.1 Protocole

L'huile de Nigelle est donnée par v.o. (1 ml/kg/jour) pendant 12 semaines à des rats. (**[168]** 1997)
L'effet sur différents paramètres sanguins est observé sur des prélèvements sanguins à la 4ème, 8ème et 12ème semaine. (voir ***tableau 30***)
VGM est le volume globulaire moyen ; TGMH est la teneur globulaire moyenne en hémoglobine et CCMH est la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

8.4.2 Résultats

A l'issue de l 'expérience, il est noté une baisse significative du taux de leucocytes (35,17%) et de plaquettes (32,17%) alors que les taux d'hémoglobine et l'hématocrite s'élèvent de 17,38% et 6,37% respectivement par rapport au groupe contrôle.
Par conséquent, le VGM, le CCMH et la TGMH augmentent respectivement de 5,53% ; 5,65% et 7,18%.

Tableau 30 : *Effet de l'huile de Nigelle sur différents paramètres sanguins chez le rat.* ***[168]***

paramètres	groupe contrôle	temps de traitement en semaines		
		4	8	12
érythrocytes ($10^6/mm^3$)	7,23 ± 1,03	7,05 ± 0,57	6,74 ± 0,44	6,91 ± 0,68
leucocytes ($10^3/mm^3$)	7,25 ± 1,71	8,23 ± 1,60	7,60 ± 1,30	4,70 ± 1,50**
plaquettes ($10^3/mm^3$)	743 ± 121	680 ± 82	570 ± 109**	504 ± 110**
hématocrite (%)	40,99 ± 4,32	39,26 ± 2,49	40,73 ± 3,15	43,60 ± 3,11*
hémoglobine (g/dl)	13,12 ± 1,45	13,53 ± 0,62	14,30 ± 0,94*	15,40 ± 0,64**
VGM (μm^3)	53,35 ± 0,14	52,75 ± 2,96	55,56 ± 2,01	56,30 ± 3,53**
TGMH (pg)	17,97 ± 0,95	18,77 ± 1,41	19,13 ± 1,48*	19,26 ± 1,22**
CCMH (g/dl)	32,94 ± 1,81	34,82 ± 2,12	34,70 ± 1,84*	34,80 ± 1,32**

***** : significativement différents du groupe contrôle avec P<0,05
****** : significativement différents du groupe contrôle avec P<0,01

8.4.3 Discussion

Chez le rat, l'huile de Nigelle modifie sensiblement les taux de leucocytes (diminution) et d'hémoglobine (élévation). Ces effets devront être pris en compte.

Rappelons qu'à deux reprises, il avait été observé une élévation du taux de leucocytes :

- L'extrait éthanolique par v.o. limitait la baisse de leucocytes induite par le cisplatine chez la souris. **[139]**
- L'extrait aqueux par v.o. prévenait la baisse de leucocytes induite par l'alloxane chez le lapin. **[129]**

8.5 Action sur l'hyperhomocystéinémie

L'homocystéine est un acide aminé soufré qui ne rentre pas dans la composition des protéines. Elle se forme lors du métabolisme de la méthionine (acide aminé essentiel).
L'homéostasie de l'homocystéine est régulée par des facteurs alimentaires (apports en folate, vitamines B12 et B6), génétiques et hormonaux.
Les risques d'affections coronariennes et vasculaires sont majorés lors d'une hyperhomocystéinémie par génération d'un stress oxydatif.

8.5.1 Protocole

L'hyperhomocystéinémie chez le rat est provoquée par une administration massive de méthionine par v.o. (100 mg/kg). (**[71]** 2003)

La TQ (100 mg/kg) et l'huile (100 µl/kg) sont données par v.o. soit pendant 30 minutes, soit pendant une semaine.

Les auteurs ont mesuré leurs effets par le dosage de l'homocystéine sanguine, l'évaluation de la péroxydation lipidique, de l'activité enzymatique de la SOD et de la glutathion péroxydase, du statut en antioxydants totaux, des triglycérides et du cholestérol sanguin.

8.5.2 Résultats

L'hyperhomocystéinémie crée une péroxydation lipidique, une hyperlipidémie, une baisse d'activité des enzymes antioxydantes et une déplétion en antioxydants intracellulaires.
La TQ et l'huile de Nigelle dans les 2 modes opératoires ont eu une protection presque totale vis à vis des effets de l'hyperhomocystéinémie à savoir :

- Baisse du taux d'homocystéine de 53 à 69% par rapport au groupe recevant seulement la méthionine ($P<0,001$)
- Inhibition totale de la péroxydation lipidique
- Inhibition totale de la baisse d'activité des enzymes antioxydantes
- Restauration des taux de triglycérides et cholestérol sanguins

Les résultats ne permettent pas de montrer de différences significatives entre l'activité de la TQ et celle de l'huile ; ni entre les 2 modes opératoires.

8.5.3 Discussion

La TQ et l'huile de Nigelle sont très favorables pour réduire l'hyperhomocystéinémie chez le rat tout en diminuant la péroxydation lipidique et la déplétion en enzymes antioxydantes.

8.6 Cardioprotection

La doxorubicine (DOX) entraîne une cardiotoxcité dose-dépendante avec lésion de la membrane lipidique par les radicaux libres de l'oxygène ; la production d'ions superoxyde serait un facteur crucial.
La cardioprotection dépendra donc largement des propriétés antioxydantes de la Nigelle.

8.6.1 Protocole

L'élévation dose-dépendante des taux sériques de lactate deshydrogénase (LDH) et de créatine phosphokinase (CPK) chez le rat et la souris est utilisée comme marqueur de la cardiotoxicité. Ceci sera complété par une étude histopathologique du tissu cardiaque. La TQ a été administrée par v.o. :

- à la souris (8 mg/kg/jour), 5 jours avant et les 2 jours suivant l'unique injection i.p. de DOX (20 mg/kg) (**[19]** 1998)
- au rat (10 mg/kg/jour), 5 jours avant et un jour durant l'injection i.p. de DOX (15 mg/kg) (**[138]** 2000)

8.6.2 Résultats

Dans les deux cas, l'administration préventive de TQ entraîne une nette réduction de l'élévation des taux sérique de LDH et de CPK.
Ces résultats sont confirmés par l'étude histopathologique du tissu cardiaque sévèrement lésé 48 heures après l'administration de DOX, avec une dégénérescence nécrotique sévère des fibres du myocarde.
Ces modifications ont été significativement atténuées par le pré-traitement par la TQ.

8.6.3 Discussion

Lors de son métabolisme, la DOX catalyse la réduction de l'oxygène par la NADPH pour former le radical superoxyde qui est réduit en péroxyde d'hydrogène par la SOD. Et le péroxyde d'hydrogène mis en présence de Fe^{2+} est réduit en radical hydroxyl très réactif vis à vis des lipides membranaires.
Les auteurs montrent que la TQ exerce une très bonne action cardio-protectrice vis à vis de la DOX et qu'elle agit comme antioxydant à différents niveaux du métabolisme de la DOX par effet piégeur de radicaux superoxydes et par inhibition de la péroxydation lipidique.

8.7 Conclusion

La graine de Nigelle réduit les taux de TG chez le rat et ne modifie pas le taux de cholestérol sanguin lors d'une administration par v.o. d'un mois, ce qui est peut être trop court.
Elle ne modifie pas l'agrégation plaquettaire chez le rat mais elle a une action transitoire à la fois coagulante et anticoagulante.

L'huile est hypotensive et diurétique modérée, elle réduit les taux de cholestérol et de TG sanguins.
Elle améliore sensiblement l'hyperhomocystéinémie.
Elle est susceptible de modifier l'hémostase par réduction du taux de plaquettes et inhibition de l'agrégation plaquettaire et tend également à accroître le taux d'hémoglobine.

Les effets de l'huile et des graines sur l'hémostase ainsi que l'action hypotensive devront être pris en compte s'ils sont retrouvés en essais cliniques.

La graine et l'huile de Nigelle seraient donc intéressantes pour réduire les risques cardiovasculaires en général, et leurs usages traditionnels dans les hyperlipidémies et l'hypertension artérielle seraient confirmés par les résultats précédents. Ils seraient plus particulièrement attribués à l'huile qu'aux graines. Par contre l'emploi en tant qu'hémostatique n'est pas prouvé ici.

Par ailleurs la TQ réduit l'hyperhomocystéinémie et la cardiotoxicité de certains médicaments chez les rongeurs.
L'HE et la TQ sont de bons antihypertenseurs et bradycardisants par une action centrale.

9 Actions cyto-toxiques et anti-tumorales

La recherche consacre beaucoup de moyens à la découverte de nouvelles substances anti-tumorales ; c'est pourquoi la Nigelle a fait l'objet de nombreuses études à ce sujet et ses différents principes ont été testés :

- *in vitro* pour leur éventuelle cytotoxicité sur un certain nombre de lignées cellulaires tumorales humaines et animales
- *in vivo* pour un effet inhibiteur du développement de la tumeur sur le modèle animal

Nous allons voir que différents composants chimiques de la graine de Nigelle sont actifs.

9.1 Les tests

9.1.1. *In vitro*

Les lignées cellulaires tumorales humaines ou animales sont mises en incubation avec la Nigelle ou le témoin positif. Suivant les méthodes, on dénombre ensuite les cellules vivantes ou les cellules mortes. La cytotoxicité de la substance testée est évaluée par sa concentration inhibitrice 50 (CI_{50}) : c'est la concentration qui inhibera 50% de la croissance cellulaire.

- **Exemples de lignées cellulaires tumorales animales :**
  - cellules ascitiques : du lymphome de Dalton de souris (DLA) et du carcinome d'Ehrlich de souris (EAC) **[154]**
  - cellules de sarcome-180 de souris **[154]**
  - cellules de leucémie lymphocytaire de souris : P388 **[119]**
  - cellules de carcinome pulmonaire de Lewis de souris : LL/2 **[119]**
  - kératocytes néoplasiques de souris : cellules SP-1 de papillome et cellules I7 de mélanome **[85]**
  - lignée cellulaire COS31 de l'ostéosarcome canin **[156]**
- **Exemples de lignées cellulaires tumorales humaines:**
  - cellules du carcinome oral (KB) **[154]** et hépatique : Hep G2 **[119]**
  - cellules tumorales pulmonaires MCF-7 **[78]** et de l'estomac **[107]**
  - cellules de leucémie : Molt4 **[119]**
  - cellules de l'adénocarcinome pancréatique : CFPAC-1 **[167]** et ovarien BG-1 **[156]**
  - cellules du sarcome utérin : MES-SA et sa lignée apparentée multi-résistante Dx5 **[167]**
  - cellules leucémique : K562 et sa lignée apparentée multi-résistante : R7 **[167]**

Parfois, une comparaison est faite entre l'effet de la Nigelle sur une lignée cellulaire multi-résistante aux médicaments et celui sur sa lignée cellulaire apparentée. **[156] [167]**

9.1.2 *In vivo*

- **Obtention de la tumeur**
  Chez l'animal, la tumeur est obtenue :
  - soit par implantation de cellules tumorales :
    - tumeurs ascitiques par inoculation i.p. de cellules ascitiques du carcinome de Ehrlich (EAC) **[154]** ou de cellules leucémiques P388 **[118]**
    - tumeurs solides par implantation sous-cutanée à des souris de cellules du lymphome de Dalton (DLA) **[154]** ou de cellules du carcinome pulmonaire de Lewis (LL/2) **[118]**
  - soit par un agent chimique:
    - carcinogenèse de la peau induite par application de diméthylbenze[a]anthracène (DMA) suivi d'huile de croton chez la souris **[155]**
    - carcinogenèse du colon induit par injection sous-cutanée de 1,2-diméthylhydrazine (DMH) à des rats **[72]**
    - carcinogenèse de l'estomac induit par administration par v.o. de benzo(a)pyrène (BP) chez la souris **[31]**
    - sarcome tissulaire induit par injection sous-cutanée de méthylcholanthrène (MCA) chez la souris **[33] [155]**

- **Évaluation de l'effet anti-tumoral**
  On évalue:
  - l'augmentation de l'espérance de vie et/ou du poids corporel
  - le nombre d'animaux porteurs de tumeurs et le nombre de tumeurs par animal
  - le poids de la tumeur (permet de mesurer le taux d'inhibition de la tumeur)
  - dans le cas de la carcinogenèse du colon, on compte le nombre de foyers porteurs de cryptes aberrantes (sa diminution est associée à un effet chimiopréventif).

9.1.3 Les mécanismes d'action

- **Potentialisation de l'effet anti-tumoral de médicaments chimiothérapiques : cisplatine et ifosfamide**

On mesure chez la souris porteuse de tumeurs, l'effet de l'administration concomitante de TQ avec le médicament. Il est comparé à celui obtenu avec le médicament seul par observation de l'espérance de vie et du poids de la tumeur. **[29] [34]**

- **Détoxication hépatique et effet antioxydant**

Sur les tumeurs induites par agent chimique : effet de la Nigelle sur les enzymes hépatiques responsables de la métabolisation de ces agents, sur la péroxydation lipidique et la teneur en GSH hépatique. **[31] [33]**

- **Effet immunosuppresseur**

Des rats sont provoqués par un antigène spécifique et on observe l'effet de la Nigelle sur le nombre de splénocytes, de neutrophiles et sur le titrage en anticorps. **[107]**

- **Inhibition de la synthèse de l'ADN**

Les cellules tumorales sont incubées avec de la thymidine tritiée en présence de Nigelle. Puis l'ADN est précipité et le taux d'incorporation de la thymidine tritiée est mesuré par scintillation liquide. **[33] [154]**

- **Arrêt du cycle cellulaire et induction de l'apoptose**

On mesure l'effet de la Nigelle sur la fragmentation de l'ADN des cellules tumorales : l'ADN est ensuite dosé par spectrophotométrie.
La cytométrie de flux permet de différencier les cellules apoptiques des cellules nécrotiques.
Elle permet également d'observer l'action de la Nigelle sur la progression du cycle cellulaire.
Enfin, la modulation par la Nigelle du taux de transcription des agents pro- et anti-apoptiques est mesurée par un test spécifique. **[85] [156]**

9.2 Résultats

9.2.1 *In vitro*

❖ **Extrait éthanolique et aqueux**

- L'extrait alcoolique est concentré en principe actif par chromatographie sur colonne (solvant : méthanol : eau ; 9 : 1). Le principe actif n'est pas révélé par les auteurs mais il peut s'agir de la TQ.
  Cet extrait (EACPA) se montrait cytotoxique avec les CI_{50} suivantes (**[154]** 1992) :
  - Lignées cellulaires de souris :
    - Cellules DLA : CI_{50} = 3,0 µg/ml
    - Cellules EAC : CI_{50} = 1,5 µg/ml
    - Cellules de sarcome-180 : CI_{50} = 1,5 µg/ml
  - Lignées cellulaires humaines :
    - Cellules KB : 0,5 µl/ml de l'EACPA inhibe 60% de la croissance des cellules.
      L'EACPA montrait une CI_{50} de 0,28 mg/ml sur les lymphocytes sains isolés de patients leucémiques ; ce qui est 186 fois la concentration requise pour obtenir 50% de cytotoxicité des cellules tumorales, d'où l'innocuité de l'extrait sur les cellules non tumorales. **[154]**
    - Cellules MCF-7 : CI_{50} = 430,25 µg/ml. Voir ci-dessous **[78]**

- Cette étude (**[78]** 2003) mesure l'effet des extraits seuls ou associés à un agent générateur de stress oxydatif (péroxyde d'hydrogène : H_2O_2) sur une culture de cellules MCF-7.
  Les extrait aqueux et éthanolique, ainsi que leur association avec H_2O_2 montrent une cytotoxicité dose-dépendante.
  L'extrait éthanolique associé à H_2O_2 est le plus cytotoxique, suivi par : l'extrait éthanolique seul, H_2O_2 seul, l'association des 2 extraits, l'extrait aqueux + H_2O_2, l'association des 2 extraits avec H_2O_2 et enfin l'extrait aqueux seul. Les CI_{50} allant de 377 à 940 µg/ml.
  L'extrait aqueux est trois fois moins cytotoxique que l'extrait éthanolique *in vitro* sur la culture de cellules MCF-7.

  - L'EACPA est cytotoxique *in vitro* envers différentes lignées cellulaires tumorales, et bien qu'il n'ait pas été comparé à un témoin positif, nous pouvons dire que son action est très intéressante puisqu'il est actif pour des concentrations de l'ordre du µg/ml.
    L'extrait aqueux est trois fois moins cytotoxique que l'extrait éthanolique *in vitro* sur la culture de cellules tumorales pulmonaires humaines.
    L'activité de l'extrait alcoolique est certainement dû à sa teneur en TQ, agent cytotoxique actif comme nous allons le voir plus loin.

❖ **Fraction à l'acétate d'éthyle**

Les auteurs en 2000 **[119]** ont réalisé des extractions successives de la poudre de graines de Nigelle par le n-hexane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Seule la fraction à l'acétate d'éthyle (FAE) s'est révélée cytotoxique.
La FAE fut ensuite soumise à une chromatographie sur colonne (éluant chloroforme/méthanol) pour isoler 6 fractions dont la 5ème (CC-5) était bio active.

- **Activité de FAE**
  Elle a montré une cytotoxicité dose-dépendante sur toutes les lignées cellulaires étudiées avec les CI_{50} suivantes :
  - cellules humaine Hep G2 : 11 µg/ml
  - cellules humaine Molt4 : 12 µg/ml
  - cellules de souris LL/2 : 16 µg/ml
  - cellules de souris P388 : 17 µg/ml

  La FAE aux doses de 50 et 100 µg/ml tue toutes les cellules testées.

- **Activité de CC-5**
  - HepG2 : CI_{50} de 8 µg/ml
  - Molt4 : CI_{50} de 10 µg/ml
  - LL/2 : CI_{50} de 11 µg/ml

  La fraction CC-5 est légèrement plus active que la FAE et, aux doses de 50 et 100 µg/ml, inhibe totalement la croissance cellulaire.
  Aux doses inférieures ou égales à 50 µg/ml, la fraction CC-5 n'inhibe pas la croissance des cellules endothéliales humaines du cordon ombilical donc n'interfère pas avec les populations cellulaires normales.
  Encore une fois, les extraits n'ont pas été testés avec un témoin positif.
  La fraction CC-5 permettra d'isoler un principe actif saponosidique : l'α-hédérine qui sera testé *in vivo* sur la tumeur induite par inoculation de cellules LL-2.

❖ **Huile essentielle**

Cette étude récente (**[107]** 2004) montre la cytotoxicité *in vitro* de l'HE de graines de Nigelle sur différentes lignées cellulaires tumorales humaines de l'estomac. Les CI_{50} obtenues vont de 120,40 à 384,54 µg/ml.
Elles sont 2 à 4 fois inférieures à celles des témoins positifs : sulfate de vinblastine et mitomycine C (48,60 à 69,31µg/ml).

❖ **Thymoquinone**

- **Lignées cellulaires humaines**
  La chimiorésistance de cellules tumorales est un problème important en thérapeutique cancéreuse.
  Lors d'une étude réalisée en 1998 **[167]**, la TQ montrait une cytotoxicité dose-dépendante pour certaines lignées tumorales humaines (MES-SA, K562) ainsi que pour leur lignées apparentées multi-résistantes (Dx5 et R7) avec des CI_{50} de l'ordre de 200 µM.

Les lignées cellulaires Dx5 et R7 sont environ 10 fois plus résistantes que leurs lignées parentales au traitement par doxorubicine (DOX) ou étoposide (ETP) (2 anticancéreux) ; alors qu'elles se montrent également sensibles à l'action de la TQ.
Néanmoins la TQ reste nettement moins active que la DOX et ETP dont les CI_{50} vont de 0,33 à 15,3 µM.
Effets sur d'autres cellules:
- cellules MCF7 : CI_{50} de 10,32 µM
- cellules BG-1 : CI_{50} de 39,65 µM (**[156]** 2002)

- **Lignées cellulaires animales**

  - Sur les cellules COS31 canines : la même observation est faite lors d'une étude plus récente **[156],** où la CI_{50} de la TQ est de 34,8 µM pour la lignée cellulaire COS31 de l'ostéosarcome canin et de 7,7 µM pour sa lignée parentale résistante au cis platine. L'effet n'a pas été comparé avec celui du cisplatine.

  - Sur les kératinocytes néoplasiques de souris : la TQ à des doses non cytotoxiques (20 à 100 µM) réduit la prolifération des cellules SP-1 de papillome et I7 de mélanome alors qu'elle n'a pas d'effet sur les kératinocytes normaux (action cytotoxique supérieure pour les cellules SP-1 avec une CI_{50} de 30 µg au bout de 24 heures contre 60 µg pour les cellules I7). (**[85]** 2004)

  - Cellules de fibrosarcome de souris : la TQ est cytotoxique de façon dose-dépendante avec une CI_{50} de 16 µM. (**[33]** 2001)

  ➢ La TQ a un effet cytotoxique mais il est souvent très inférieur à celui des témoins positifs.

❖ **Dithymoquinone**
Lors de l'étude **[167]** réalisée en 1998 sur différentes lignées cellulaires humaines, la dithymoquinone avait été testée parallèlement à la TQ pour sa cytotoxicité dose-dépendante pour les cellules MES-SA et K562 et leurs lignées apparentées multi-résistantes Dx-5 et R7.
La dithymoquinone était aussi active sur les lignées multi-resistantes que sur leur lignées parentales avec une forte activité sur la lignée Dx-5 : activité 3 fois supérieure à la TQ.
Pour toutes les autres lignées cellulaires on ne notait pas de différence significative de cytotoxicité entre la dithymoquinone et la TQ ; par contre ses effets sont très inférieurs à ceux de la DOX ou de l'ETP.

9.2.2 *In vivo*

❖ **Extrait alcoolique**

- **Sur la carcinogénèse de la peau de souris**
  L'application externe de 100 mg/kg de l'EACPA, 2 fois par semaine pendant 6 semaines, juste avant l'application d'huile de croton, a permis de réduire, par rapport au groupe non traité (au bout de 12 semaines) :
  - le développement du papillome : baisse de 13,4% du nombre de souris porteuses
  - le nombre de papillomes par souris, significativement diminué : 2,4 et 1,3 dans les groupes : contrôle et traité par la Nigelle, respectivement. (**[155]** 1991)

- **Sur le sarcome tissulaire de souris**
  L'injection i.p. de la même dose de l'EACPA pendant 5 jours et ceci 30 jours après initiation de la tumeur, permettait de prévenir efficacement l'incidence du sarcome, avec à la 12ème semaine :
  - une baisse de 67% du nombre de souris porteuses
  - une réduction du diamètre de la tumeur de 53% (P<0,02) **[155]**

- **Sur la tumeur ascitique de la souris** (inoculation de cellules EAC) **[154]**
  L'injection i.p. de 100 mg/kg de l'EACPA pendant 10 jours inhibe totalement le développement des cellules EAC (P<0,001) alors que la dose de 50 mg/kg ne montrait qu'une inhibition partielle (augmentation de 64% de l'espérance de vie par rapport au groupe non traité).

❖ **α-hédérine**

- **Sur la tumeur solide de la souris** (implantation de cellules LL/2) (**[118]** 2000)
  L'effet de l'α-hédérine injectée en i.p. pendant 7 jours, 10 jours après induction de la tumeur est le suivant :
  - à la dose de 5 et 10 mg/kg, réduction de l'incidence de la tumeur de façon dose-dépendante

- à ces mêmes doses, inhibition de la croissance tumorale avec une activité supérieure (P<0,001) à celle du témoin positif le cyclophosphamide (20 mg/kg) (P<0,01).

❖ **Huile**

- **Sur la carcinogénèse du colon du rat** (**[72]** 2003)
  L'huile, à la dose par v.o. de 200 mg/kg est donnée soit en post-traitement (pendant 8 semaines après induction de la tumeur), soit en pré-traitement (3 semaines avant et les 3 semaines durant l'administration de DMH).
  L'huile de Nigelle inhibe efficacement la carcinogénèse du colon par :
  - une activité anti-proliférative sur toute la surface du colon
  - une baisse du nombre de foyers porteurs de cryptes aberrantes et de cryptes aberrantes par foyer

  L'effet anti-tumoral est supérieur en post-traitement.
  Par ailleurs l'huile ne modifie pas l'histologie du foie, des reins et de la rate ni les paramètres biochimiques du sang et de l'urine.

❖ **Thymoquinone**

- **Sur la carcinogénèse de l'estomac de la souris** (**[31]** 1999)
  Par rapport au groupe non traité, la TQ donnée par v.o. (30 mg/kg/jour) une semaine avant, pendant, et 4 semaines après l'induction de la tumeur :
  - inhibe de 70% l'incidence tumorale (P<0,05)
  - réduit de 67% le développement de la tumeur (P<0,01)

- **Sur le sarcome tissulaire de la souris** (**[33]** 2001)
  La TQ donnée par v.o. à la dose de 30 mg/kg/jour, 1 semaine avant et après l'induction de la tumeur, a pour effet par rapport au groupe non traité :
  - de réduire de 43% l'incidence tumorale
  - de réduire de 34% le volume de la tumeur
  - d'augmenter de 21% le taux de survie

9.2.3 Discussion

Nous obtenons *in vitro* des effets cytotoxiques de l'extrait éthanolique, de l'HE, de la fraction à l'acétate d'éthyle, de la TQ et de la dithymoquinone ; mais l'effet du témoin positif était très supérieur en général (pour l'HE, la TQ et la dithymoquinone).
In vivo, l'extrait éthanolique, l'α-hédérine, l'huile et la TQ ont été étudiés et les effets semblent plus intéressants car l'α-hédérine a par exemple une activité supérieure au cyclophosphamide (aux doses testées) sur la tumeur solide de la souris, mais cette molécule n'est pas spécifique de la Nigelle.

9.3 Mécanismes d'action

9.3.1 Potentialisation de médicaments chimiothérapiques

- **Cisplatine** (**[34]**1997)

La TQ est donnée par v.o. à des souris, à la dose de 8 mg/kg/jour, 4 jours avant (et durant 60 jours) l'injection unique de cisplatine (7 mg/kg en i.p.), un jour après inoculation de cellules EAC.
La TQ seule ne modifie pas les données par rapport au groupe non traité.
Le temps de survie augmente de 25 jours soit 161% par rapport au groupe traité par le cisplatine seul (P<0,001).
Au 60ème jour de l'expérience, 40% des souris restent vivantes avec le cisplatine seul, contre 60% avec la TQ+cisplatine (P<0,001).
La TQ améliore donc l'indice thérapeutique du cisplatine.

- **Ifosfamide** (**[29]** 1999)

La TQ est donnée par v.o. (5 mg/kg/jour pendant 30 jours) à des souris porteuses de tumeur ascitique de Ehrlich et traitées par IFO (injection i.p. 50 mg/kg/jour ; du jour 1 à 4 et du jour 15 à 18).
Au bout de 30 jours, l'activité anti-tumorale est supérieure pour le groupe traité par TQ+IFO avec une baisse de 73% du volume relatif de la tumeur et de 33% de la mortalité par rapport au groupe recevant seulement IFO. (voir ***tableau 31***)

Dans cette étude, il avait été montré que la TQ réduisait la toxicité rénale induite par IFO ; nous voyons ici qu'elle améliore son action anti-tumorale de façon significative.

Tableau 31 : *Activité antitumorale du traitement par ifosfamide et/ou thymoquinone chez des souris porteuses de tumeurs ascitiques.* ***[29]***

traitement	survie		volume relatif de la tumeur	
	15 jrs	30 jrs	15 jours	30 jours
contrôle	6/6	6/6	210 ± 30	370 ± 40
TQ	6/6	6/6	190 ± 22	250 ± 31[a]
IFO	7/8	6/8	160 ± 15	146 ± 10[a,b]
TQ+IFO	8/8	8/8	100 ± 11[a,b]	40 ± 6[a,b,c]

n = 6 à 8
[a] : significativement différent du groupe contrôle avec P<0,05
[b] : significativement différent du groupe traité par la TQ avec P<0,05
[c] : significativement différent du groupe traité par IFO avec P<0,05

$$\text{Volume relatif de la tumeur} = \frac{\text{vol.tumeur au jour t du traitement}}{\text{vol.tumeur au jour 0 du traitement}} \times 100$$

Le mécanisme par lequel la TQ potentialise l'action de ces 2 médicaments chimiothérapiques n'est pas connu, d'autres travaux seraient nécessaires afin de le connaître et d'évaluer cette activité avec d'autres médicaments.

9.3.2 Détoxication hépatique et effet antioxydant

- **Sur la carcinogénèse de l'estomac de la souris [31] :**
  La TQ induit une forte protection cellulaire vis à vis de l'attaque radicalaire provoquée par le BP avec : réduction de la péroxydation lipidique et de la déplétion en GSH hépatique.
  L'expérience montre aussi que la TQ augmente l'activité des enzymes hépatiques responsables de la métabolisation du BP : GST et DT-diaphorase.

- **Sur le sarcome tissulaire de la souris [33] :**
  La TQ réduit la péroxydation lipidique et la déplétion en GSH hépatique induit par le MCA et augmente l'activité enzymatique de la GST et de la quinone réductase, 2 enzymes responsables de la métabolisation du MCA.

9.3.3 Effet immunosupresseur [107]

In vivo, des rats provoqués par un antigène spécifique (thyroïde) sont traités par l'HE de Nigelle (injection i.m. de 2,5 µl/rat, 2 fois par semaine pendant 30 jours) pour voir si celle-ci est immunosuppressive.
L'HE réduit le nombre de splénocytes de 36% et de neutrophiles de 43% (P<0,001) par rapport au groupe contrôle non traité et le titre du sérum en anticorps était de 1280 contre 2560 pour le groupe contrôle non traité (P<0,002).
Ceci signifierait que l'HE de Nigelle pourrait exercer une activité cytotoxique sur les cellules cancéreuses en partie par une action immunosuppressive.
Cette action semble être en contradiction avec l'effet immunostimulant de la Nigelle, mais rappelons qu'il a été montré pour l'huile et la fraction protéique de la graine.

9.3.4 Inhibition de la synthèse de l'ADN

L'extrait alcoolique concentré en principe actif réduit l'incorporation de thymidine tritiée dans l'ADN des cellules DLA avec une CI_{50} de 0,1 µg/ml ; ce qui est 30 fois inférieur à sa CI_{50} cytotoxique envers les mêmes cellules. **[154]**

La thymoquinone inhibe de façon dose-dépendante l'incorporation de la thymidine tritiée dans l'ADN des cellules de fibrosarcome de souris avec une CI_{50} de 1 µM ; ce qui est 16 fois inférieur à sa CI_{50} cytotoxique. **[33]**

Les 2 composés exercent donc en partie leur effet anti-tumoral par une inhibition de la synthèse de l'ADN ce qui réduirait la multiplication des cellules malignes.

9.3.5. Arrêt du cycle cellulaire et induction de l'apoptose

- **Fragmentation de l'ADN**
  In vitro, la TQ à la dose de 100 µM pendant 24 et 48 heures crée une augmentation de la fragmentation de l'ADN des cellules COS31 canines, de façon comparable au témoin positif le cis platine (10 µg pendant 48 heures).(**[156]** 2002)

- **Induction de l'apoptose**
  Dans cette même étude la TQ crée une apoptose des cellules COS31 dépendante du temps et de la dose. **[156]**
  La TQ crée également sur les kératinocytes néoplasiques de souris (par rapport au groupe non traité) une augmentation du nombre de cellules apoptiques dépendante du temps. (**[85]** 2004)

- **Arrêt du cycle cellulaire en une phase donnée**
  - Sur les cellules canines COS31 **[156] :**
    La TQ crée une baisse du nombre de cellules en phase S et une augmentation de celles en phase G_1 avec un effet optimum au bout de 24 heures.
    Ceci indique que la TQ stoppe le cycle cellulaire en phase G_1.
  - Sur les kératinocytes néoplasiques de souris **[85] :**
    La TQ induit un arrêt du cycle cellulaire en phase G_1 pour les cellules de papillome SP-1 et en phase G_2M pour les cellules de mélanome I7 au bout de 24 heures.

- **Modulation du taux de transcription des agents pro- et anti-apoptiques**
  Dans cette même étude récente, **[85]** les auteurs montrent que la TQ induit l'apoptose en augmentant le taux de transcription ARN des protéines pro apoptiques (Bax, Bak et Bad) et en diminuant celui des protéines anti-apoptiques (Bcl-W et Bcl-X).
  D'autre part, une recherche sur les médiateurs clefs du cycle cellulaire montre que la TQ agirait par augmentation du taux de protéine P16 et diminution de la cycline D_1 chez les cellules SP-1.
  Or la protéine P16 est reconnue pour être impliquée dans l'arrêt du cycle en phase G_1 et la cycline D_1 est un facteur qui assure la transition de la phase G_1 vers la phase suivante.
  La modulation de la transcription de ces 2 protéines améliore la sensibilité des tumeurs aux drogues chimiothérapiques.
  Pour les cellules I7, l'arrêt du cycle en phase G_2M par la TQ est associé à une élévation du taux de protéines P53 et à une baisse de la protéine cycline B_1.
  Or il a été démontré par ailleurs que plusieurs médicaments anticancéreux agissaient par modulation de l'expression de ces 2 protéines.

9.4 Conclusion

Nous voyons par ces travaux l'intérêt porté envers la recherche de nouvelles molécules chimiothérapiques ; mais rares sont les substances cytotoxiques et antitumorales qui débouchent finalement sur un médicament anti-cancéreux. Cependant nous pouvons remarquer plusieurs points intéressants :

- Plusieurs mécanismes sont impliqués dans les effets anti-tumoraux et cytotoxiques de la TQ et cette molécule pourrait être associée à un traitement en vue de potentialiser ses effets.
- La TQ a un mode d'action comparable à certains médicaments chimiothérapiques c'est à dire : arrêt du cycle cellulaire en une phase donnée et induction de l'apoptose par modulation du taux de transcription des agents pro- et anti-apoptiques.
- Même si l'huile a montré chez le rat une activité antitumorale intéressante sur la carcinogénèse du colon, de nombreuses études sont encore nécessaires pour éventuellement valider cet effet chez l'homme.

10 Propriétés anti-infectieuses

La Nigelle a traditionnellement été utilisée pour lutter contre les infections bactériennes, virales ou fongiques.

10.1 Propriétés antibactériennes

10.1.1 Les tests

- ***In vitro***
  L'effet antibactérien est évalué par la méthode de diffusion sur disque et mesuré par le diamètre d'inhibition de la Nigelle ou du témoin positif (antibiotique) sur la croissance bactérienne.

- ***In vivo***

  – sur ***Shigella flexneri*** (**[55]** 1997) :
  La shigellose est une affection endémique au Bangladesh responsable de diarrhées. La souche impliquée la plus répandue est *Shigella flexneri* SH4 ; elle est résistante aux antibiotiques majeurs. Le singe est un modèle de shigellose expérimentale idéal car il est un des hôtes naturels de *Shigella flexneri*.
  Des singes expérimentalement infectés par *Shigella fl.* reçoivent par v.o. une dose de charge d'HE de 300 mg/kg suivie de doses de 100 mg/kg, 3 fois par jour pendant 5 jours.
  L'effet antibactérien est observé sur la coproculture récoltée chaque jour.

  – sur ***Staphylococcus aureus*** (**[93]** 1991) :
  Après injection sous-cutanée de culture de *Staph.aureus*, les souris sont traitées par infiltration : soit d'extrait à l'éther éthylique de graines de Nigelle (2 mg), soit de gentamicine (0,5 mg), puis sont tuées au bout de 24 heures.
  Les germes recueillis par prélèvement sur le site d'infection sont mis en culture. Le nombre de colonies présentes indique le succès (≤ 10 colonies) ou l'échec du traitement.

10.1.2 Les résultats

❖ **La thymoquinone**
Dans sa thèse de 2001, S.Slimane **[158]** a expérimenté l'effet antibactérien *in vitro* de la TQ sur les souches bactériennes commensales ou pathogènes de la flore cutanée.
La TQ inhibe la croissance de toutes les souches suivantes à la CMI de 100 ppm :

- ***Staphylococcus xylosus***, ***S. haemolyticus***, ***S.intermdius***, ***S.epidermidis*** 1S2, ***S.hominis*** 8S2, ***S.cohnii*** 6S3, ***S.intermédius*** 6108 , ***S.intermédius*** 6146,
- ***Micrococcus luteus*** 1C5, ***Mic. sedentarius*** 7B5,
- ***Coryneforme*** gr C 3C3, ***Cor.*** gr B 16C3, *Cor.* gr D2 19C1
- ***Acinetobacter*** sp H5DC1,
- ***Moraxella*** sp H7SV1,
- ***Corynebacterium xerosis***

- Pour ***Alcaligenes*** sp H4TV1, la TQ n'agit qu'à partir de 450 ppm.

- La TQ n'inhibe pas la croissance des différentes espèces de ***Pseudomonas aeruginosa*** : ***P.aer.*** 5791, ***P.aer.*** 5803, ***P.aer.*** 5667.

  ➢ La TQ est très intéressante comme antibactérien de la flore cutanée car pour la plupart des souches étudiées sur lesquelles elle est active, sa CMI se situe entre 25 et 50 ppm.

❖ **L'huile essentielle**
Les HE sont connues pour leurs activités antibactériennes, et déjà dans les années 60, l'HE de Nigelle était étudiée dans ce but.

- ***In vitro***

  - En 1982 **[151]** Rathee et al. ont comparé l'HE (0,01 mg/ml) avec la pénicilline (2,5 unités/ml) et la streptomycine (10 µg/ml) sur différents germes. (voir ***tableau 32***)
    L'HE a une action anti-bactérienne large, comparable voire supérieure aux témoins positifs.

- Dans une autre étude (**[69]** 1998) et sur les germes ***Staph.aureus, Bacillus subtilis, E.coli*** et ***Pseudomonas aeruginosa*** ; l'HE à la concentration de 4,4 mg/ml exerce un effet antibactérien supérieur ou égal à l'amoxicilline (20 µg/ml).

Tableau 32 : *Action anti-bactérienne de l'huile essentielle, de l'huile et de la matière insaponifiable de graines de Nigelle.* ***[151]***

organismes	Zone d'inhibition en mm				
	pénicilline	streptomycine	HE	huile	mat.insapon.
Escherichia coli	—	22	16	10	8
Bacillus anthracis	20	—	20	15	12
Salmonella typhii	—	17	22	8	8
Bacillus subtilis	24	—	20	10	12
Corynebacterium pyrogenes	24	—	20	8	12
Pseudomonas aeruginosa	—	22	28	9	10
Proteus vulgaris	—	18	18	12	12
Staphylococcus aureus	26	—	26	10	12
Shigella shigae	—	22	26	10	14
Klebsiella pneumoniae	—	22	20	12	10

- Une activité anti-bactérienne de l'HE a encore été montrée pour d'autres germes (pas de témoin positif) **[69]** : ***Streptococcus faecalis, Corynebacterium michiganense, Mycobacterium smegmatis, Pseudomonas syringae, Xanthomonas vesicatoria***.
- Sur ***Vibrio cholerae*** et ***Shigella*** (**[82]** 1992) : germes responsables au Bangladesh d'affections diarrhéiques résistantes aux traitements antibiotiques :
  L'HE à la dose de 10 µl/disque a pu inhiber la croissance des souches de ***Shigella flexneri***, ***Vibrio cholerae*** et ***Shigella dysenteriae*** avec des diamètres d'inhibition allant de 12 à 64 mm (contre 11 à 25 mm pour la gentamicine à 10 µg/disque, seul témoin positif pouvant inhiber la croissance de tous les germes testés).
  L'activité de l'HE était également supérieure à celle des autres antibiotiques testés en parallèle : ampicilline, tétracycline, acide nalidixique et co-trimoxazole (aux concentrations de 10, 30, 30 et 25 µg/disque respectivement) : les souches résistantes aux antibiotiques étaient sensibles à l'action de l'HE.
  L'HE totale, sa fraction phénolique et sa fraction non phénolique (5 µL/disque) inhibent la croissance des souches de ***Shigella dysenteriae,*** **de** ***Shigella flexneri,*** **de** ***Shigella sonnei*** et de ***Shigella bodii.***
  L'HE totale est la plus puissante (diamètre d'inhibition allant de 10 à 46 mm).
  La fraction non phénolique est plus active que la fraction phénolique et que la gentamicine (10 µg/disque) avec des diamètres d'inhibition de 9 à 37 mm, de 7 à 19 mm et de 10 à 16 mm respectivement.

- ***In vivo***
  - Sur ***Shigella flexneri*** (**[55]** 1997) :
    L'observation de la coproculture récoltée chaque jour montre que l'HE apporte une amélioration au bout de 24 à 32 heures avec une guérison dans les 3 jours pour le groupe traité par la Nigelle, alors que le groupe contrôle non traité gardait des symptômes au-delà du 6ème jour.

    - L'HE de Nigelle est active *in vitro* sur un certain nombre de germes gram+ et gram-, avec un effet parfois comparable à celui de l'amoxicilline et de la gentamicine.
      Dans l'ensemble, les germes gram+ sont plus sensibles que les gram- à l'HE.
      Contrairement à ce que l'on pourrait penser, la fraction non phénolique de l'HE est plus active certainement grâce à sa teneur en TQ.
    - *In vivo* l'HE est efficace pour traiter la shigellose du singe.

❖ **L'huile et l'insaponifiable**

Le ***tableau 32*** de l'étude **[151]** montre l'effet antibactérien de l'huile et de l'insaponifiable sur quelques germes.
Ces extraits sont beaucoup moins antibactériens que l'HE et que les témoins positifs.
L'huile a un effet supérieur à l'insaponifiable.

- **L'extrait à l'éther éthylique** (il reflète l'activité de l'huile).
  - ***In vitro***
    - A la dose de 400 µg/disque, l'extrait à l'éther éthylique a un bon effet antibactérien sur ***Staphylococcus aureus, Escherichia coli*** et ***Pseudomonas aeruginosa***, cette activité est supérieure sur les germes gram+. (**[93]** 1991)
    - Sur ces mêmes souches, l'extrait avait une action antibactérienne synergique avec la streptomycine et la gentamicine. Et l'effet de l'extrait était additionnel à celui des antibiotiques suivants : spectinomycine, érythromycine, doxicycline, ampicilline, chloramphénicol, acide nalidixique, lincomycine et l'association sulphaméthoxyzole-triméthoprime.
    - Aucune action sur *Salmonella typhii.*
  - ***In vivo***
    Chez la souris après induction d'une infection cutanée à ***Staphylococcus aureus***, l'infiltration sous-cutanée de l'extrait à l'éther éthylique avait un effet antibactérien supérieur à celui de la gentamicine aux doses testées. **[93]**

- **Extraits aqueux, alcoolique et alcaloïdes**
  - Les germes suivants ont été isolés de patients souffrant d'arthrite septique (**[135]** 2000) :
    - Germes gram+ : 3 souches de *Staphylococcus aureus,* 2 souches de *Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus epidermidis.*
    - Germes gram- : 4 souches d'*Escherichia coli,* 2 souches de *Enterobacter gergoviae, Enterobacter aerogenes, Enterobacter agglomerans, Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Klebsiella sp., Salmonella typhii, Salmonella enteridis, Proteus mirabilis, Pseudomonas sp.*
    - Ces souches, surtout les gram-, sont résistantes à toute une série d'antibiotiques testés dans ces travaux.
  - Les extraits de Nigelle suivants sont testés aux concentrations de 1 ; 5 ; 10 ; 50 et 100 mg/ml :
    - F1 : extrait méthanolique
    - F2 : extrait aqueux/méthanolique (1 :1)
    - F3 : extrait aqueux
    - F4 : alcaloïdes (extraits de F1)
  - Tous les extraits sont résistants à *Pseudomonas sp., Staphylococcus epidermidis,* 1 des 3 souches de *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter aerogenes, Streptococcus faecalis* et sur 2 souches d'*Escherichia coli.*
    L'extrait le plus antibactérien est l'extrait méthanolique puis l'extrait aqueux. Les 2 autres sont beaucoup moins actifs.
    F1 et F2 : la majorité des germes sont affectés par les basses concentrations.
    Ils n'agissent pas sur *Staphylococcus aureus.*
    Le germe le plus sensible est ***Enterobacter gergoviae***.
    Nous remarquons que contrairement à l'extrait à l'éther éthylique, ici tous les extraits testés sont actifs sur *Salmonella typhii.*
    - La meilleure activité est obtenue avec la fraction méthanolique et ceci est dû à la TQ.

10.1.3 Discussion

En 1965 les auteurs Toppozada et al. **[163]** montraient l'effet antibactérien de l'HE de Nigelle sur différents germes gram+ et gram-. Il est connu que les HE sont de bons anti-infectieux et c'est le cas ici certainement grâce à la teneur en TQ.
En effet, l'HE et la TQ inhibent *in vitro* la croissance de nombreux germes, et ce sont les 2 composés actifs anti-infectieux de la graine de Nigelle.
L'extrait à l'éther éthylique qui peut refléter l'activité de l'huile est visiblement moins anti-infectieux que ces 2 derniers.
Il est important de noter les effets sur ***Staphylococcus aureus*** :

- *in vitro* de la TQ, de l'HE et de l'huile (extrait à l'éther éthylique).
- *in vivo* sur l'infection cutanée chez la souris de l'extrait à l'éther éthylique qui révèle l'activité de l'huile et qui est supérieure à celle de la gentamicine aux doses testées.

10.2 Propriétés antifongiques

10.2.1 Les tests

- ***In vitro***
  Par la méthode de diffusion sur disque on évalue la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait testé ou du témoin positif.

- ***In vivo***
  Une culture de ***Candida albicans*** est inoculée en i.v. à des souris.
  L'extrait aqueux de Nigelle (6,6 ml/kg) est injecté en i.p. et pendant 3 jours, soit avant, soit 24 heures après l'inoculation du germe.
  L'évaluation se fait par dosage du nombre de colonies dans les tissus rénaux, hépatiques et spléniques. (**[115]** 2003)

10.2.2. Les résultats

❖ **L'extrait aqueux**

- ***In vivo* sur *Candida albicans* [115]**
  L'inoculation crée une colonie d'abcès surtout concentrée dans les reins.
  Le pré-traitement par la Nigelle n'a pas d'effet. (voir ***tableau 33***)
  Le post-traitement entraîne une amélioration importante de l'histopathologie : peu d'abcès et préservation de l'architecture des tissus.
  Le nombre de colonies est très diminué par le post-traitement avec la Nigelle : il y en a 5 fois moins dans les reins, 11 fois moins dans la rate et 17 fois moins dans le foie.
  L'extrait aqueux paraît être intéressant dans le traitement de la candidose sans entraîner de toxicité.

  ➢ Les auteurs pensent que la Nigelle n'exerce pas d'action antifongique directe mais qu'elle agirait en potentialisant les défenses immunitaires et notamment en stimulant les granulocytes et monocytes à libérer le monoxyde d'azote. Il avait été montré que NO était impliqué dans la défense contre le *Candida.*

Tableau 33 : *Effet de l'extrait aqueux de graines de Nigelle sur des souris porteuses de candidose.* ***[115]***

traitement	nombre de colonies en CFU/g de tissu		
	rate	foie	rein
contrôle	10100 ± 139	11900 ± 1465	210000 ± 1642
EA post-traitement	901 ± 99*	690 ± 83*	41300 ± 55**
EA pré-traitement	33800 ± 7590	15500 ± 3326	250000 ± 10852

* : p<0,001 comparé au groupe contrôle
** : p<0,05 comparé au groupe contrôle
CFU : unité colonie formant ; EA : extrait aqueux

❖ **Huile (extrait à l'éther éthylique)**
Cet extrait à l'éther éthylique montre *in vitro* une inhibition de la croissance de ***Candida albicans*** avec un effet maximum à la dose de 50 µg/disque. (**[93]**1991)

❖ **Huile essentielle**
Les études ne sont pas assez nombreuses et trop peu récentes.

- En 1978 déjà **[150]** l'HE avait montré une activité antifongique *in vitro* contre *Aspergillus flavus* et *Fusarium tenuis* et en 1979 **[114]** contre ***Aspergillus albicans, Asp.niger, Microsporum gypseum, Curvularia lunata***.

- En 1993, **[49]** l'HE inhibait la croissance de ***Candida albicans*** *in vitro* et des moisissures suivantes par ordre d'activité croissante : ***Botrytis cynerea, Stereum purpureum, Sclerotinia sclerotiorium, Cylindrocarpon heteronema, Fusarium oxysporum*** et ***Aspergillus niger***.

  ➢ L'HE semble avoir de bonnes propriétés antifongiques et plus de travaux seraient nécessaires.

❖ **Thymoquinone**
En tant qu'antifongique, la TQ a fait l'objet de plus nombreuses recherches.

- **Action sur *Aspergillus niger*** (**[13]** 2003)
  Cette moisissure est responsable d'un certain nombres d'affections opportunistes chez les personnes immunodéficientes ou neutropéniques. Elle affecte le système pulmonaire et nerveux, la peau, l'endocarde…
  Il a été montré une bonne activité antifongique *in vitro* de la TQ avec une CMI de 2 mg/ml.
  L'effet de la TQ est dose-dépendant.
  Un supplément sélectif contenant du cycloheximide et du chloramphénicol échoue à inhiber totalement la croissance de la moisissure en comparaison de l'action de la TQ.

- **Action sur *Saprolegnia*** (**[102]** 2002)
  Saprolegnia est un champignon qui affecte les poissons d'eau douce au Japon et qui peut être présent à tous les stades du développement du poisson. Ceci pose un problème dans les aquacultures : les agents actifs sur ce champignon (malachite verte et formaline) ont des inconvénients majeurs : impact sur les écosystèmes aquatiques, effets immunosuppresseurs pour les poissons et effets tératogènes.

  - *In vitro*
    - A la dose de 160 µg/ml, la TQ est fongicide pour les 2 espèces ***Saprolegnia parasitica*** *NJM8604* et ***Saprolegnia salmonis*** avec des CMI respectives de 150 et 125 µg/ml.
    - La TQ à la dose de 4 µg/ml empêche la germination des zoospores des 2 espèces lors d'une mise en contact de 30 minutes.

  - *In vivo*
    La TQ est toxique pour la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus* mykiss) mais est bien tolérée chez *Carassius auratus* à la dose de 4 µg/ml, concentration active sur les zoospores.

- **Action sur différents champignons opportunistes de la peau et sur quelques dermatophytes**
  La TQ a été testée *in vitro* sur différents champignons en 2001 **[158].**
  A la CMI de 125 ppm, la TQ inhibe la croissance des souches suivantes :
  - ***Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum, Trichophyton interdigitale, Microsporum canis, Microsporum gypseum***,
  - ***Candida albicans***,
  - ***Cryptococcus neoformans***,
  - ***Malassezia pachydermatis***,
  - ***Aspergillus fumigatus***
  - ***Scopulariopsis brevicaulis***.

  L'activité de la TQ est moindre sur ***Scytalidium*** sp pour laquelle sa CMI est de 250 ppm.

  ➢ La TQ a donc une très bonne activité antifongique en ce qui concerne les champignons pathogènes de la peau et des phanères.

10.2.3 Discussion

L'extrait aqueux, l'huile (extrait à l'éther éthylique), l'HE et la TQ sont antifongiques.
Les points intéressants sont les suivants :

➢ leur activité *in vitro* sur le ***Candida albicans*** et celle *in vivo* de l'extrait aqueux sur la candidose de la souris.

➢ l'activité de la TQ sur les germes responsables de mycoses cutanées chez l'homme : la TQ étant le composant essentiel de l'HE de graines de Nigelle ; elle pourrait donc être utilisée dans certaines mycoses cutanées après s'être assuré de son innocuité.

En effet, l'huile ou les graines broyées de Nigelle ont été utilisées en application externe pour traiter certaines affections cutanées, reste à savoir si leur concentration en TQ et en HE est suffisante pour avoir un effet antifongique puisque ce sont ces derniers qui ont la principale activité.

10.3 Propriétés antivirales

Deux travaux concernent cette propriété.

10.3.1 Les tests

- **Virus de l'hépatite C**

L'effet inhibiteur *in vitro* de différentes plantes sur le virus de l'hépatite C est évalué par le pourcentage d'inhibition de l'activité de la protéase du virus. (**[101]** 2000)

- **Cytomégalovirus**

Le cytomégalovirus appartient au groupe des virus de l'herpès et il crée des infections disséminées chez les animaux immunodéficients.
L'effet *in vivo* de l'huile de Nigelle sur l'infection au cytomégalovirus (CMV) chez la souris est évalué.
L'huile est injectée en i.p. à la dose de 100 µg/jour pendant 7 jours avant et 1 jour après l'induction de l'infection aux souris par inoculation du virus. On dénombre ensuite le nombre de colonies par organe.
Le mécanisme d'action est étudié par (cytométrie de flux) observation de l'effet modulateur de l'huile sur les cellules immunitaires de la rate. (**[153]** 2000)

10.3.2 Les résultats

- **Virus de l'hépatite C**

L'extrait méthanolique et aqueux de graines de Nigelle donnait un pourcentage d'inhibition de l'activité de la protéase de 42,7% et 30,5% respectivement.
Ce résultat reste moyen comparé à d'autres plantes testées et les extraits de Nigelle ne sont pas très intéressants dans ce domaine. **[101]**

- **Cytomégalovirus**

L'huile améliore très significativement la pathologie avec une baisse de plus de moitié du titre en virus dans le foie et la rate ($23x10^3$ et $3x10^3$ respectivement, contre $45x10^4$ et $7x10^4$ pour le groupe contrôle) qui sont les 2 principaux sièges de l'infection.
Étonnamment, dans la rate des souris infectées, l'huile abaisse le taux et l'activité cytolytique des cellules natural killer (NK) alors que celles-ci jouent un rôle crucial dans la lutte contre l'infection du CMV dans les 3 premiers jours.
Mais l'huile a également pour effet d'augmenter le taux sérique de IFN-γ (médiateurs produits entre autre par les cellules NK) et le nombre ainsi que l'activité de Mφ.
Les Mφ des monocytes ou des tissus interviennent en initiant la réponse immunitaire précoce contre l'infection au CMV.
L'huile de Nigelle semble être très intéressante dans l'infection au CMV et son effet antiviral s'exerce certainement par stimulation des défenses immunitaires via la production de IFN-γ et l'augmentation du nombre de Mφ. **[153]**

10.3.3 Discussion

Trop peu de travaux portent sur les effets antiviraux. Seule une bonne activité de l'huile contre le CMV a été montré *in vivo* chez la souris. Ceci résulterait de l'effet immumodulateur de la Nigelle.

10.4 Conclusion

La Nigelle présente des effets : antibactérien, antifongique et antiviral (contre le CMV) très intéressants.

Ce sont surtout l'HE et la TQ qui possèdent les actions antibactériennes et antifongiques de la graine de Nigelle avec une efficacité sur différents germes et champignons.

L'huile est moins puissante mais elle présente tout de même une activité contre ***Escherichia coli, Staphylococcus aureus*** et ***Pseudomonas aeruginosa.*** **[93]**
Son effet anticandidosique a aussi été mis en évidence. **[93]**
L'application de l'huile sur la peau contre les infections cutanées pourrait être envisagée après preuve de son innocuité.
Concernant l'effet antiviral, les travaux sont trop peu nombreux. Seul le CMV a fait l'objet de recherches chez la souris avec de bons résultats par traitement avec l'huile en injection i.p. **[153]**
Nous ne connaissons pas l'activité anti-infectieuse de la graine.

11 Propriétés antiparasitaires

La Nigelle est très utilisée traditionnellement pour traiter les parasitoses.

11.1 Les tests

- **Sur les nématodes** (**[7]** 1997)
  - Des chèvres multi infestées par des nématodes reçoivent une dose orale unique de différents extraits de Nigelle : glycosides totaux, saponines totales et anthraquinones totales.
    Nous remarquons qu'il n'avait jamais été question auparavant de la présence d'anthraquinones, peut-être est-ce une confusion avec les quinones.
  - L'effet est évalué au 3ème, 10ème et 15ème jour après traitement par comptage du nombre d'œufs/g de fèces.
  - Il est comparé à celui d'un témoin positif : le Nilzan®, antiparasitaire de référence composé de 1,5% de lévamisole et de 3% d'oxyclonazide. Les inconvénients des médicaments utilisés sont leurs effets indésirables et la résistance des parasites.
  - Les auteurs étudient parallèlement les effets indésirables des différents extraits (agitation, somnolence, tremblements et diarrhées)

- **Sur *Schistosoma mansoni*** (**[124]** 2002)
  La bilharziose intestinale entraîne des troubles intestinaux, compliqués parfois de lésions hépatospléniques car les vers et leurs œufs se logent dans les intestins et le foie où ils activent les cellules T, puis les macrophages, avec formation de granulomes. La gravité dépend du nombre d'œufs dans le foie et de l'importance des granulomes.
  Le stress oxydatif joue un rôle particulier dans l'aggravation des lésions hépatiques.

  - L'huile de Nigelle été donnée par v.o. (2,5 et 5 ml/kg pendant 2 semaines), seule ou associée au témoin positif, à des souris infectées par *Schistosoma mansoni*.

  - Témoin positif : le praziquantel (PZQ : anti-parasitaire de choix contre la bilharziose intestinale) donné par v.o. à la dose de 500 mg/kg/jour pendant 2 jours consécutifs, seul ou associé à la Nigelle.

  - L'évaluation de l'effet anti-parasitaire se fait par observation :
    - de l'histopathologie et mesure du diamètre du granulome,
    - de la répartition des oeufs et des vers (intestins et foie),
    - de l'effet antioxydant : péroxydation lipidique hépatique, taux de GSH, activité enzymatique hépatique de la SOD et la LDH, taux sériques en ALT, γ –GT et alcaline phosphatase.

11.2 Les résultats

- **Sur les nématodes [7]**
  - Aucune action significative n'est notée avec les anthraquinones et les saponines.
  - Concernant les glycosides totaux, bien que rien ne soit précisé, il s'agit vraisemblablement des flavonosides :
    - Aux 3 doses testées, ils réduisent significativement le nombre d'œufs au 10ème et 15ème jour.
    - Aux doses de 150 et 200 mg/kg les résultats sont similaires à ceux obtenus avec le médicament.
  - L'étude des effets indésirables révèle une relative innocuité des glycosides totaux comparés au Nilzan et aux saponines (jusqu'à 33% et 50% d'effets indésirables observés respectivement).

    ➢ Les glycosides de graine de Nigelle montrent une bonne activité contre les nématodes, et ses principes actifs antiparasitaires sont concentrés dans les glycosides.

- **Sur *Schistosoma mansoni* [124]** (confère ***tableau 34***)
  - L'huile seule :
    - Elle diminue l'importance des lésions par réduction de la taille des granulomes et amélioration des taux sériques en ALT, γ –GT et alcaline phosphatase.
    - Ceci est confirmé par l'étude histopathologique.
    - Elle permet de réduire le nombre de vers (-22% et –32% de vers aux doses de 2,5 et 5 ml/kg d'huile contre –98% avec le PZQ) par rapport au groupe contrôle avec $P<0,05$.

- C'est dans le foie que la Nigelle est plus efficace : réduction du nombre de vers de 71% et 65% avec l'huile de Nigelle aux doses de 2,5 et 5 ml/kg respectivement.
- On observe aussi une baisse du nombre d'œufs dans le foie et les intestins.
- Par contre la Nigelle ne permet pas de restaurer le statut en antioxydants hépatiques.

– L'association du PZQ et de l'huile de Nigelle
  - elle augmente les effets du médicament surtout pour réduire le nombre d'œufs matures dans les intestins (-31,5% avec PZQ seul contre –85% et –95% avec PZQ + huile aux doses de 2,5 et 5 ml/kg respectivement).
  - Cette association est intéressante pour diminuer la taille des granulomes.

Tableau 34 *: Effet de la Nigelle, seule ou associée au praziquantel, sur la distribution des vers et la taille du granulome chez la souris infectée par Schistosoma mansoni.* ***[124]***

traitement	distribution des vers		nombre total de vers	% de réduction	% de vers dans le foie	diamètre du granulome en µm
	foie	veine porte mésentérique				
contrôle	11,7 ± 1,5	15,3 ± 2,1	27,0 ± 2,8		43	201,9 ± 7,3
PZQ	0,4 ± 0,4*	0,2 ± 0,3*	0,6 ± 0,5*	98	60	166,3 ± 6,2*
huile 2,5 ml/kg	3,4 ± 0,8*	17,6 ± 4,3*	21,0 ± 3,6*	22	16	170,0 ± 7,2*
PZQ+huile 2,5 ml/kg	0,4 ± 0,2*	0,3 ± 0,2*	0,6 ± 0,4*	98	60	165,6 ± 4,3*
huile 5,0 ml/kg	4,1 ± 1,4*	13,4 ± 2,6*	18,3 ± 3,4*	32	22	152,8 ± 4,6*
PZQ+huile 5,0 ml/kg	0,1 ± 0,1*	0,3 ± 0,3*	0,4 ± 0,3*	99	75	160,8 ± 4,7*

* : significativement différent du groupe contrôle non traité avec P<0,05
n = 8 à 10

➢ Le mécanisme d'action de la Nigelle n'est pas connu mais il s'exerce certainement en partie par stimulation de l'immunité et atténuation de la réponse inflammatoire du granulome.
La fibrose hépatique chez les patients porteurs d'une bilharziose intestinale chronique reste présente même après traitement par le PZQ, d'où l'intérêt d'associer l'huile de Nigelle pour réduire la fibrose et la formation des granulomes.

11.3 Conclusion

La Nigelle a été traditionnellement utilisée pour traiter les parasitoses, maladies courantes dans les pays où pousse cette plante. Ceci est confirmé par la pharmacologie en ce qui concerne les infections à nématodes avec l'action antiparasitaire des glycosides (flavonosides).
Contre la bilharziose intestinale, l'huile de Nigelle associée aux traitements chimiothérapiques permet d'en augmenter l'efficacité et de réduire les lésions hépatiques associées.
Les glycosides (flavonosides) et l'huile sont de bons antiparasitaires respectivement contre les nématodes et la bilharziose intestinale**. [7] [124]**
Le mécanisme d'action de la Nigelle n'a pas été approfondi mais il semble que son effet sur les défenses immunitaires soit responsable en grande partie de ses propriétés antiparasitaires.

12 Action sur les fonctions de reproduction

12.1 Action sur la production de lait

La Nigelle a souvent été employée traditionnellement pour favoriser la montée de lait chez les femmes allaitantes.
Malheureusement la seule étude pharmacologique montrant un effet galactogogue est très ancienne. (**[5]** 1970)

12.1.1 Protocole

Des rates venant de mettre bas sont soumises à différentes diètes : contrôle (diète de base) ; diète enrichie en graines de Nigelle dégraissées ; diète enrichie en extrait à l'éther et diète témoin positif : diète de base + injection quotidienne de 0,05 µg/g d'œstrogène.
Le poids initial et final des portées après 14 jours de traitement est évalué.
L'histopathologie du tissu mammaire montre la distension ou non des acini sécréteurs. **[5]**

12.1.2 Résultats

- L'extrait dégraissé est inactif donc le principe actif galactogogue se trouve dans la partie lipidique des graines.
- L'augmentation de poids de chaque portée indique que l'effet galactogogue est supérieur pour le groupe traité par l'extrait à l'éther comparé au groupe témoin positif.
- L'étude histologique du tissu mammaire révèle une dilatation des acini sécréteurs, par augmentation de l'activité sécrétoire dans les groupes traités par l'œstrogène ou par l'extrait à l'éther, en comparaison avec les autres groupes. L'extrait éthéré possède l'activité la plus importante.
- Le mécanisme d'action n'a pas été étudié dans ces travaux.

12.1.3 Discussion

En résumé, la Nigelle montre un effet galactogogue supérieur à celui des oestrogènes aux doses testées et le principe actif se trouve dans la partie lipidique des graines.

L'usage traditionnel de la Nigelle dans la lactation serait ici confirmé et concernerait l'huile.

12.2 Action sur la gestation, action abortive

12.2.1 Les tests

- **Action abortive**
  - Les extraits de Nigelle sont administrés à des rates juste après le coït. On évalue ensuite leurs effets lors de l'autopsie, par mesure du nombre de sites d'implantation de l'oeuf et du nombre de corps jaune.
  - Les différents extraits :
    - L'extrait aqueux et à l'éther de pétrole : 150 à 200 mg/kg/jour par voie orale du 1er au 7ème jour après le coït. (**[117]** 1995)
    - L'extrait éthanolique et l'extrait à l'hexane : 2 g/kg/jour par voie orale du 1er au 10ème jour. **[117]**
    - L'extrait à l'hexane est soumis à une chromatographie sur colonne pour obtenir 3 fractions (A, B, C). La fraction C étant la plus active, elle fut à nouveau séparée par CCM (solvant : le chloroforme) pour révéler 3 autres fractions : C1, C2 et C_3. Chaque fraction est testée au même dosage de 2 g/kg/jour par voie orale du 1er au 10ème jour. **[117]**
    - L'huile : 2 ml/kg/jour en injection i.p. du 1er au 6ème jour. (**[74]** 1999)

- **Action sur l'embryogenèse**
  - L'huile est injectée en i.p. à la même dose que ci-dessus du 8ème au 16ème jour après le coït.
  - On observe après anesthésie : la taille de la portée, le rapport du nombre mâles/femelles, le poids du foetus et du placenta et les effets tératogènes éventuels : anomalies foetales internes et externes. **[74]**

- **Action sur la durée de gestation**
  - La même dose d'huile est injectée du 15ème au 21ème jour.
  - On observera les modifications de temps de gestation et de délivrance. **[74]**

- **Mécanisme d'action**
  Pour voir un éventuel effet oestrogénique de l'extrait à l'hexane, des rates ovariectomisées reçoivent 2 g/kg/jour d'extrait pendant 3 jours. Le groupe témoin positif reçoit 0,002 et 0,02 mg/kg de 17α-ethinylestradiol.
  Le poids de l'utérus et une observation du vagin permettent de conclure.

12.2.2 Les résultats

- **Action abortive** (voir ***tableau 35***)
  - ❖ Les extraits aqueux, éthanolique, à l'éther de pétrole et l'huile n'ont aucun effet sur l'implantation. **[74] [117]**
  - ❖ L'extrait à l'hexane : il se montre très abortif en prévenant 100% des gestations. **[117]**
  - ❖ Ses fractions actives :
    - Sa fraction active C : à la dose de 400 mg/kg inhibe 50% des gestations tout en diminuant de 47% le nombre d'implantations chez les rates gestantes par rapport au groupe contrôle (P<0,01).
    - La fraction C2 de C, à la dose de 400 mg /kg, est la fraction la plus active avec seulement 3 rates sur 10 gestantes et une baisse de 77% du nombre d'implantations chez les rates tout de même gestantes par rapport au contrôle (P<0,01).
      - ➢ Donc c'est encore la fraction lipidique qui possède l'activité abortive chez la rate alors que précédemment l'huile n'avait pas d'effet ; ceci provient certainement du fait qu'elle a été donnée seulement pendant 6 jours et que cette durée serait insuffisante pour obtenir un effet abortif.
        Dans cette fraction lipidique, la fraction C2 est la plus active, il aurait été intéressant de connaître sa composition.

Tableau 35 : *Activité abortive de l'extrait à l'hexane et de ses fractions chez la rate.* ***[117]***

traitement	dose quotidienne mg/kg	nb rates gestantes/ nb rates traitées	nb d'implantations au 16ème jour après le coït
excipient		9/10	8,9 ± 1,3
ext.hexane	2000	0/10*	
excipient		10/10	7,0 ± 0,6
fraction A	1000	4/10*	3,7 ± 1,6
fraction B	700	8/10	6,5 ± 1,3
fraction C	400	5/10*	3,7 ± 1,3
excipient		10/10	7,9 ± 0,6
fraction C1	400	6/10*	5,5 ± 1,5
fraction C2	400	3/10*	1,8 ± 0,9
fraction C3	400	7/10	5,6 ± 1,0

*** :** significativement différent du groupe contrôle correspondant avec P<0,01
nb : nombre

- **Action sur l'embryogenèse**
  Chez les rates traitées du 8ème au 16ème jour de la gestation : l'huile de Nigelle n'induit pas d'anomalie externe ou viscérale du fœtus.
  La taille de la portée, le rapport du nombre mâles/femelles, le taux de résorption et le poids du placenta ne sont pas modifiés.
  L'huile de Nigelle provoque par contre une élévation de 33% du poids du fœtus par rapport au groupe contrôle ($P<0,05$). **[74]**

- **Action sur la durée de gestation**
  Chez les rates traitées du 16ème au 21ème jour de la gestation : pas de modification de la durée de gestation après injection d'huile.

- **Mécanisme d'action**
  Concernant le profil oestrogénique, l'expérience montre que l'extrait à l'hexane est dénué d'activité oestrogénique. **[117]**

12.2.3 Discussion

- Un effet abortif important est provoqué chez la rate par l'ingestion de la fraction lipidique de la graine de Nigelle, les 10 jours suivant le coït.
- L'extrait hexanique (huile) de graine de Nigelle est dénué d'activité oestrogénique donc il agirait plutôt via le métabolisme de l'acide arachidonique.
- Il n'a pas modifié la durée de la gestation ni l'embryogenèse donc il n'est pas tératogène.
- La qualité nutritionnelle de l'huile de Nigelle permet une élévation du poids du fœtus.
- L'effet abortif est très gênant et conduira à contre-indiquer la prise de graines ou d'huile de Nigelle chez la femme enceinte.

12.3 Action utérorelaxante

12.3.1 Les tests

On observe l'effet :

- Soit de l'**HE** de Nigelle (0,04 à 0,20 mg/ml) sur la contraction spontanée du muscle utérin isolé de cobaye, ou en pré-incubation sur la contraction induite par l'ocytocine. (**[22]** 1996)
- Soit de l'**huile** de Nigelle en injection i.p. pendant 2 semaines (1 et 2 ml/kg/jour) avant isolation de l'utérus de la rate non gestante et induction de la contraction par l'ocytocine ou la prostaglandine E2 (PGE2). **[74]**

Dans les 2 cas, 24 heures avant isolation de l'utérus, les animaux reçoivent un médicament oestrogénique.

12.3.2 Les résultats

- **L'huile essentielle**
  - L'HE crée une inhibition concentration-dépendante et réversible de la contraction spontanée du muscle utérin de rat et de celle induite par l'ocytocine.
  - L'HE pourrait donc avoir une activité anti-ocytocique qui s'effectuerait probablement par inhibition calcique, car la contraction du muscle utérin est dépendante de l'augmentation de la concentration du calcium dans le cytoplasme. **[22]**

- **L'huile**
  L'administration d'huile de Nigelle réduit significativement la contraction et la sensibilité de l'utérus aux composés ocytociques : PGE_2 et ocytocine. **[74]**

12.3.3 Discussion

Nous retrouvons dans la partie lipidique, l'effet utérorelaxant par effet anti-ocytocique et probablement inhibiteur calcique *in vivo* chez la rate non gestante.
L'HE possède la même activité *in vitro* sur le muscle utérin isolé de cobaye.
Cet effet utérorelaxant pourra avoir un intérêt ou non suivant les cas.

12.4 Conclusion

- La partie lipidique de la graine de Nigelle est abortive chez la rate lors de son utilisation du 1er au 10ème jour après le coït et stimule la lactation de la rate allaitante.
- Chez la rate non gestante, l'huile *in vivo* est utérorelaxante par action anti-ocytocique et effet inhibiteur calcique. Le même effet est obtenu *in vitro* avec l'HE sur le muscle utérin isolé de cobaye.
- Aucun autre effet sur la gestation n'est apparu lors de l'usage de l'huile de Nigelle chez la rate au-delà du 10ème jour de gestation : pas d'effet tératogène, pas de modification de la durée de gestation.
- L'huile de Nigelle est par ailleurs dénuée d'action oestrogénique.

Au vu de ces résultats, certaines contre-indications seront envisagées chez la femme enceinte.

13 Résumé des activités pharmacologiques

Voici un résumé des propriétés pharmacologiques, avec une évaluation des effets prépondérants des différents extraits.
Lorsque les extraits n'ont pas été comparés entre eux, nous avons établi cette évaluation par déduction d'après la composition de chaque extrait ou d'après les mécanismes d'action engagés. (***tableau 36***)

Echelle de l'activité :	++++	:	forte
	+++	:	assez bonne
	++	:	moyenne
	+	:	légère
	0	:	nulle ou non significative
	—	:	non déterminée

Tableau 36 *: Résumé des activités pharmacologiques*

PROPRIETES	GRAINE	HUILE	TQ	HE	EXT. ALCOOL.	EXT. AQUEUX	AUTRES
antioxydante	—	+++	++++	++++	++	+	
immunostimulante	—	++	—	—	—	—	protéines +++
anti-inflammatoire	+++	+++	++++	++++	++	+	
système nerveux central							
sédative	—	+++	++++	—	++	+	
antalgique	—	+++	++++	++++	++	+	
anticonvulsivante	—	—	++	—	—	—	
respiratoires							
bronchodilatatrice	—	+++	+++	+++	++	++	
antihistaminique	—	—	—	—	—	—	nigellone +++
antitussive	—	—	—	—	—	+++	
digestives							
antiulcéreux gast.	—	+++	++++	—	—	+	
colite	—	—	+++	—	—	—	
antispasmodique	—	+++	—	—	++	++	
cholérétique	—	+++	—	—	—	—	
hypoglycémiante	—	++++	—	++++	—	+	
cardiovasculaires							
hypotensive	—	+++	+++	+++	—	—	
hypolipémiante	+	+++	++++	—	+	—	alcaloïd. (TG) +++
altération de l'hémostase	+	+++	++	—	—	—	
lutte c/ hypermomocystèin.	—	+++	+++	—	—	—	
cytotoxique/antitumorale	—	++	+++	++	++	+	α-hédérine ++
anti-infectieuse							nigellone ++
antibactérienne	—	++	++++	++++	++	+	
antifongique	—	+++	++++	++++	—	++	
antivirale	—	+++	—	—	+	+	
antiparasitaire	—	+++	—	—	—	—	glycosides +++
sur la reproduction							
galactogogue	—	+++	—	—	—	—	
utérorelaxante	—	+++	—	+++	—	—	
abortive	—	++++	—	—	0	0	

Conclusion

Nous verrons plus loin que la graine broyée est employée dans un but médicinal dans les pays d'origine. Cette utilisation en l'état y est certainement aussi fréquente que celle de l'huile. Par contre en Europe, l'huile est la seule forme médicinale recommandée.
Nous remarquons ici, que c'est bien l'huile qui est la plus étudiée du point de vue pharmacologique alors que la graine ne l'est que très peu.
Les chercheurs se sont aussi intéressés à l'huile essentielle et à la thymoquinone.
Parfois, d'autres principes ont un effet marqué, comme par exemple la fraction protéique de la graine qui est immunostimulante.

CHAPITRE 4

TOXICOLOGIE

1 Comparaison entre les différents extraits

Ces études sont d'autant plus importantes que la Nigelle est à la fois une épice et une plante médicinale, donc consommée de façon courante dans un grand nombre de régions du monde.

1.1 Toxicité aiguë

Ces travaux concernent la toxicité aiguë des différents principes de la graine de Nigelle en **injection intra péritonéale chez la souris.** (**[68]** 2003)

1.1.1 Protocole

La mortalité observée dans les 24 heures suivant l'injection des principes permet de calculer la DL_{50} (dose tuant 50% des souris) selon la méthode de Litchfield et Wilcoxon (1948).

Les extraits sont les suivants : extrait aqueux, huile (extraite par l'hexane), huile essentielle (HE : extraite par distillation par entraînement à la vapeur d'eau), TQ, α-pinène et para-cymène.
La TQ a été, soit mise en suspension dans le carboxyméthylcellulose (TQ/CMC) soit diluée dans l'huile de maïs (TQ/H.Maïs).

1.1.2 Résultats

Le ***tableau 37*** résume les DL_{50} obtenues.

Tableau 37 : *Détermination des DL_{50} des différents extraits de Nigelle en injection i.p. chez la souris.* ***[68]***

extrait	huile	E.Aqueux	HE	a-Pinène	p-Cymène	TQ/CMC	TQ/H.Maïs
DL_{50} en mg/kg	3371 2676-5109	3020 2530-3610	1853 1634-2106	1726 1571-1899 12,7 mM/kg	1523 1181-1960 11,3 mM/kg	616,6 451,3-842,4 3,8 mM/kg	90,3 77,9-104,7 0,6 mM/kg

n= 5 ou 6

Tous les composants sont très modérément toxiques (DL_{50} de 616,6 à 3371 mg/kg) ; sauf la TQ en solution huileuse avec une DL_{50} de 90,3 mg/kg.
Ceci indique que la biodisponibilité de la TQ en suspension est faible contrairement à celle de la TQ en solution huileuse qui est certainement fortement absorbée dans la circulation systémique.

1.2 Neurotoxicité

Les mêmes auteurs comparent la neurotoxicité des différents extraits.

1.2.1. Protocole : le test de la cheminée [68]

Il permet de déterminer la dose i.p. d'extrait induisant chez 50% des animaux un déficit neurologique minimal (TD_{50}).

Une souris est introduite la tête la première dans un tube horizontal ; quand elle atteint l'autre extrémité, on relève le tube à la verticale de façon à ce que l'animal grimpe à reculons. On mesure le temps nécessaire à la souris pour arriver en haut.
Le test est effectué 45 minutes après administration de Nigelle.
Les extraits testés sont les mêmes que précédemment ; la TQ est en suspension dans le CMC.

1.2.2 Résultats (voir *tableau 38*)

- Tous les extraits sont susceptibles de provoquer un déficit neurologique minimal, ce qui n'est pas étonnant puisque la Nigelle est active sur le système nerveux central.
- On retrouve le même ordre de toxicité : TQ la plus neurotoxique, l'huile est la moins neurotoxique.
- La seule différence est notée pour l'α-pinène qui est ici plus neurotoxique que le p-cymène.
- Nous voyons donc que la neurotoxicité est assez corrélée avec la toxicité aiguë.

Tableau 38 : *Doses entraînant un déficit neurologique minimal chez 50% des souris (TD_{50}).* ***[68]***

extrait	huile	E.Aqueux	HE	p-Cymène	α-Pinène	TQ/CMC
TD_{50} en mg/kg	1403 584-3374 —	950 430-2100 —	306 192-463 —	368 271-508 2,7mM/kg	<173 — <1,3mM/kg	88,1 54,3-143,1 0,5mM/kg

n= 5 ou 6

Nous allons voir de façon plus détaillée chaque composant.

2 Toxicité de l'huile

2.1. Toxicité aiguë

2.1.1 Voie intra-péritonéale

- Toxicité aiguë de l'huile en i.p. chez la souris :
  - DL_{50} de 3,37 g/kg (soit 3,66 ml/kg) d'après l'étude **[68]** vue plus haut
  - D'autres travaux réalisés en 2004 **[143]** à partir d'huile de Nigelle extraite à l'éther éthylique donne une DL_{50} de 10,97 g/kg (soit 11,915 ml/kg). Cette grande différence peut provenir des variations expérimentales (solvants différents : l'hexane extraira plus de composés apolaires que l'extrait à l'éther éthylique, il contiendra donc une partie de l'HE ce qui augmentera sa toxicité) ou des variations de la composition de l'huile.
    Cette étude est intéressante car elle compare les toxicités aiguës en i.p. chez la souris de différentes huiles grasses extraites de plantes aromatiques et culinaires elles-même pourvues d'HE relativement toxiques.
    Ainsi la toxicité de l'huile de Nigelle est la plus faible de celles testées : toxicité 2 fois moins importante que celle de graines de fenouil, 4 fois moins importante que celle des graines d'anis et 10 fois moins importante que celle des graines de cumin ou des feuilles de giroflier.
- Neurotoxicité de l'huile en i.p. chez la souris : TD_{50} de 1,403 g/kg (soit 1,52 ml/kg).
- L'huile a la plus faible neurotoxicité et toxicité aiguë des extraits testés. **[68]**
- Remarques **[68]** :
  - Les doses létales d'huile par v.o. ou i.p. ont créé une agitation immédiate et des modifications du comportement, ceci a été suivi d'une phase de tranquillité puis de sédation.
  - La mort est survenue 12 heures après injection de l'huile.
  - L'autopsie révélait une congestion des poumons et un arrêt cardiaque en phase de diastole.
  - Les animaux survivants ont retrouvé leur activité et leur croissance normale après 4 à 8 jours.

2.1.2 Voie orale

La DL_{50} de l'huile par v.o. chez la souris a été évaluée à 28,8 ml/kg soit 26,52 g/kg. **[170]**

- La toxicité aiguë de l 'huile chez la souris en i.p. est faible et celle de la voie orale l'est encore 10 fois plus.

2.2 Toxicité chronique

2.2.1 Protocole [170]

Elle a été étudiée chez le rat après **prise orale** de 2 ml/kg/jour pendant 12 semaines.
Différents paramètres biochimiques et hématologiques ainsi que l'histopathologie des organes principaux ont ensuite été étudiés.

2.2.2 Résultats

- Aucune modification n'a été observée concernant l'activité des enzymes clefs hépatiques et l'histopathologie des organes.
- Les changements suivants sont apparus (par rapport au groupe contrôle non traité) :
  - une baisse des taux sanguins de cholestérol, de triglycérides et de glucose (P<0,05)
  - une baisse du nombre de plaquettes et de leucocytes (P<0,01)
  - une élévation de l'hémoglobine et de l'hématocrite (P<0,05)
  - une baisse du poids corporel (P<0,01) due certainement à l'effet de l'huile de Nigelle sur le métabolisme lipidique.
- Ces effets ont déjà été soulignés dans la pharmacologie cardiovasculaire.

➢ La toxicité chronique par voie orale est très faible.

2.3 Effets tératogènes

Seule l'huile a été étudiée pour d'éventuels effets tératogènes chez la rate à la dose i.p. de 2 ml/kg/jour du 8^{éme} au 16ème jour après le coït.
Ceci n'a engendré aucune anomalie dans la portée. **[74]**

➢ L'huile n'a pas d'effet tératogène chez la rate.

2.4 Discussion

➢ Les DL_{50} étant relativement élevées nous en concluons que la toxicité aiguë de l'huile de Nigelle est très faible chez la souris que ce soit en administration par v.o. ou i.p.

➢ La toxicité chronique de l'huile est également faible chez le rat mais il faudra tenir compte de l'effet hypoglycémiant , hypocholestérolémiant et de l'action sur l'hémoglobine, les leucocytes et les plaquettes. Bien que concernant les plaquettes nous ayons vu précédemment que l'effet n'est pas toujours significatif.

➢ Les études concernant la toxicité de l'huile sont insuffisantes. Celle-ci devrait être beaucoup plus documentée étant donné la commercialisation assez répandue de la Nigelle sous cette forme.

➢ L'huile de Nigelle n'est pas tératogène chez la rate après injection i.p.

➢ La tolérance cutanée de l'huile devrait être observée de près, car son usage externe est très courant.

3 Toxicité de l'extrait à l'éther de pétrole

Cet extrait concentre majoritairement l'huile avec une partie de l'huile essentielle.

3.1 Toxicité aiguë

Lors de travaux effectués en 1997 **[18]** sur la souris, l'extrait à l'éther de pétrole administré par **voie orale** ne montrait aucun effet indésirable, ni mortalité jusqu'à la dose de 6 g/kg.

3.2 Toxicité chronique

En 2004, **[120]** des rats recevant par **voie orale** un extrait à l'éther de pétrole de graines de Nigelle pendant 4 semaines (l'équivalent de 2 g/kg de poudre) n'ont montré aucun signe de toxicité ni de changement de comportement.

3.3 Discussion

Seul l'effet par voie orale a été étudié en partie et montre une faible toxicité de l'extrait à l'éther de pétrole ce qui correspond à ce qui a été observé pour l'huile.

4 Toxicité de l'huile essentielle

4.1 Toxicité aiguë

- La DL_{50} de l'HE chez la souris en injection i.p. est de 1,853 g/kg. **[68]**
  Dans ces travaux l'HE se révélait légèrement plus toxique que l'extrait aqueux et l'huile et moins toxique que ses composants principaux : l'α-pinène, le para-cymène et la TQ (les 3 constituants les plus toxiques de la Nigelle dans cette étude).
  Neurotoxicité de l'HE : TD_{50} de 0,306 g/kg.
  Les auteurs de cette étude concluaient donc en une faible toxicité de l'HE en i.p.
- L'étude **[143]** dont nous avons parlé précédemment compare les toxicités aiguës en i.p. chez la souris de différentes HE provenant de plantes aromatiques et culinaires.
  Ainsi la toxicité de l'HE de Nigelle est environ 1,5 fois plus importante que celle des graines d'anis ou de cumin ; 2 fois plus importante que celle des graines de fenouil et 5 fois plus importante que celle de graines d'aneth ou de coriandre.
  Or l'HE de graine d'anis et de fenouil sont considérées comme très toxiques et leur vente libre est interdite.
- Rappelons les variations de la composition de l'HE de Nigelle, celle des graines des 2 travaux cités ci-dessus n'est pas connue.
  La différence obtenue dans ces études **[68] [143]** nous montre que l'HE peut avoir une toxicité assez importante selon sa composition.

4.2 Remarques

- En faisant un calcul, selon sa DL_{50}, la dose de TQ nécessaire pour tuer une souris de 25 g serait de 2,26 mg ; la dose d'HE nécessaire pour le même effet serait, selon sa DL_{50} de 46,32 mg. Or la teneur en TQ dans l'HE étant de 21%, il y a environ 9,73 mg de TQ dans 46,32 mg d'HE. Nous voyons que la dose létale de TQ seule est très inférieure à celle contenue dans la dose létale d'HE donc nous pouvons supposer que d'autres composants de l'HE réduisent la toxicité de la TQ.
- Si l'on fait le même calcul avec l'α-pinène et le para-cymène c'est le contraire, c'est à dire que pour une souris de 25 g, la dose létale d'α-pinène (43,2 mg) ou de para-cymène (38,1 mg) seul est supérieure à celle contenue dans la dose létale d'HE (4,3 mg et 16,8 mg respectivement).
- Ces observations réunies montrent que la TQ est le principal agent responsable de la toxicité aiguë de l'HE. Nous verrons que la TQ a une toxicité très faible par voie orale du fait d'une métabolisation enzymatique hépatique. La toxicité aiguë de l'HE par voie orale sera donc très atténuée par rapport à celle de la voie i.p. **[68]**

4.3 Discussion

D'après ces résultats, la toxicité aiguë de l'HE par voie i.p. est très variable et voici quelques réflexions importantes :

- Le composé le plus potentiellement toxique de la graine est la TQ, concentrée dans l'HE. Nous avons vu que la composition chimique de l'HE était très variable selon la provenance de la graine.
  La teneur en thymoquinone va de 0,6% à 24% ce qui fera énormément varier sa toxicité par voie i.p.
- Les HE de Nigelle ayant une moins forte concentration en TQ ne seront pas forcément moins toxiques car il faudra tenir compte alors de la toxicité des composés majoritaires comme par exemple le trans-anéthol présent à la hauteur de 38,3% dans l'HE extraite des graines d'Iran (Téhéran). **[142]**
- Heureusement, l'HE de Nigelle n'est pratiquement pas commercialisée et elle ne représente que 0,5% environ de la composition de la graine ce qui tempère ces possibles variations de toxicité.
- La toxicité par voie orale n'a pas été étudiée, ni la toxicité chronique en injection i.p..

5 Toxicité de la thymoquinone

5.1 Toxicité aiguë

5.1.1 Voie intra-péritonéale [68]

- Toxicité aiguë chez la souris par voie i.p. :
  - TQ en suspension dans l'huile : DL_{50} de 90,3 mg/kg.
  - TQ en suspension dans CMC : DL_{50} de 616,6 mg/kg
- Neurotoxicité aiguë chez la souris de la TQ dans CMC par voie i.p. : TD_{50} de 88,1 mg/kg.

  - La toxicité aiguë de la TQ par voie i.p. est la plus importante de tous les extraits et principalement lorsqu'elle est en suspension dans l'huile, ce qui augmente sa biodisponibilité. Or aujourd'hui, des extraits de plantes enrichis en leur principe actif sont parfois commercialisés : attention donc à l'envie d'enrichir l'huile de Nigelle en TQ ou même en HE !)

5.1.2 Voie orale ([32] 1998)

- Chez la souris, la DL_{50} de la TQ par voie orale est de 2,4 g/kg ; ce qui montre une relative tolérance de l'ingestion de TQ par la souris.
- La toxicité de la TQ était caractérisée par une hypoactivité et des difficultés respiratoires marquées, avant la mort, survenue dans les 3 premières heures après administration. Aucune mortalité n'était enregistrée au-delà de 24 heures.
- Chez les animaux survivants, 24 heures après l'ingestion de TQ (doses de 2 et 3 g/kg), on observait une forte baisse de la teneur en GSH dans les organes vitaux et une élévation de la concentration plasmatique d'urée et de créatinine.

5.1.3 Remarques

- La toxicité aiguë de la TQ est très inférieure par voie orale ; bien que dans cette étude la TQ soit dissoute dans l'éthanol alors qu'elle l'était dans l'huile de maïs lors de son administration i.p., ce qui augmentait sa biodisponibilité.
  Néanmoins, si l'on se base sur la DL_{50} de la TQ en suspension dans le CMC (616,6 mg/kg) celle-ci reste toujours inférieure et signe une toxicité beaucoup plus importante de la TQ par voie i.p.
  Ceci est certainement dû à une biodisponibilité nettement plus faible de la TQ après administration orale ; la TQ est alors transformée dans le foie ou dans le tractus gastro-intestinal en métabolites moins toxiques par la DT-diaphorase (cette catalyse est considérée comme étant

la principale voie de détoxication par laquelle les hydroquinones obtenues peuvent être conjuguées et excrétées). **[68]**

- A titre de comparaison, citons la toxicité aiguë en i.p. chez la souris de 2 molécules toxiques :
  - l'aconitine (alcaloïde diterpénique de l'Aconit, Renonculacées) : DL_{50} de 100 µg/kg. **[106f]**
  - la ricine (toxine polypeptidique de la graine de ricin) : DL_{50} de 3 µg/kg. **[106g]**

5.2 Toxicité chronique

5.2.1 Voie orale (**[32]** 1998)

- **Protocole**
  Des souris ont reçu pendant 90 jours par v.o. : 30, 60 et 90 mg/kg/jour de TQ.
- **Résultats**

  - Par rapport au groupe contrôle non traité la TQ ne modifie pas le poids corporel ni celui des organes vitaux ; n'entraîne ni mortalité ni changement histologique des organes majeurs, ne change pas l'activité des enzymes clefs hépatiques, ni la concentration plasmatique en urée et créatinine, ni la teneur en GSH des organes vitaux.

  - La seule conséquence de ce traitement est une baisse significative ($P<0,01$) de la glycémie de 9,5% ; 19% et 33% aux doses de 30, 60 et 90 mg/kg respectivement.
  Ceci a déjà été vu dans les études pharmacologiques.

5.2.2 Voie intra-péritonéale (**[2]** 2002)

La toxicité chronique par voie i.p. n'a pas été établie ; mais lors d'une étude sur l'effet de la TQ sur les lipides sanguins chez le rat, la dose i.p. de 8 mg/kg/jour tua presque tous les rats du groupe à la fin de la 1ère semaine.
Les rats qui survécurent à cette dose quotidienne pendant 14 jours étaient porteurs d'une péritonite aiguë.
Aucune toxicité n'a été remarquée pour des doses inférieures à 8 mg/kg /jour.

5.3 Discussion

- La toxicité aiguë de la TQ n'est pas spécifique et est accompagnée d'une déplétion en GSH dans les organes vitaux.
- La TQ par voie orale (en administration aiguë ou chronique) est bien tolérée ; seul un effet hypoglycémiant doit être pris en compte. Contrairement à l'étude de toxicité de l'huile, l'effet sur le nombre de leucocytes ou de plaquettes n'a pas été pris en compte.
- La seule toxicité observée de la TQ est une toxicité aiguë chez la souris lors de son injection par voie i.p. et surtout lorsqu'elle est en solution huileuse.
- Nous rappelons que la teneur en TQ dans la graine est de moins de 0,1% et celle de l'huile de 0,05 à 0,15%. Le risque de toxicité dû à la TQ par prise d'huile ou de graines est nul.

6 Toxicité de l'extrait aqueux

6.1 Toxicité aiguë [68]

- Toxicité aiguë de l'extrait aqueux en injection i.p. à des souris : DL_{50} de 3 g/kg.
- Neurotoxicité de l'extrait aqueux en injection i.p. à des souris : TD_{50} de 0,95 g/kg.
- La toxicité aiguë de l'extrait aqueux est l'une des plus faibles après l'huile.

6.2 Hépatotoxicité

6.2.1 Protocole

L'extrait aqueux est donné par v.o. à des rats sous anesthésie pendant 14 jours à la dose de 10 ml/kg/jour. (**[162]** 1991)
Sont observés après 14 jours :

- Le dosage sanguin des enzymes clefs hépatiques
- L'histopathologie du foie

6.2.2 Résultats

On observe :

- Une élévation significative des enzymes γ-GT et de l'ALT par rapport au groupe contrôle (P<0,001 et P<0,01 respectivement).
- L'histopathologie ne met pas réellement en évidence de signes de toxicité suite à l'administration de l'extrait aqueux de graines Nigelle.
- Les activités des enzymes AST et phosphatase alcaline ne sont pas modifiées.

6.3 Discussion

- La toxicité aiguë de l'extrait aqueux de graines de Nigelle en injection i.p. chez la souris est faible.
- Cet extrait, ne montre pas de signe évident de toxicité, néanmoins, il peut engendrer des modifications de certaines enzymes hépatiques clefs, les auteurs suggèrent donc d'être vigilant. En effet l'extrait aqueux contiendra les saponosides et une partie des alcaloïdes.
- Lors de l'utilisation en médicine traditionnelle ou en tant qu'épice, la graine de Nigelle n'est pratiquement jamais utilisée sous forme d'extrait aqueux (infusions, macération…). Par contre elle peut être consommée intrégralement en thérapeutique, y compris les alcaloïdes et les saponosides. Donc il faudra tenir compte de ces effets si la prise est prolongée.

7 Toxicité des graines

Actuellement, il n'y a pas de travaux connus sur la toxicité de la graine de Nigelle par voie orale.
Nous pouvons cependant être certain qu'elle est très inférieure à celle de l'HE ou de la TQ, or celles –ci sont bien tolérées par voie orale donc la toxicité par v.o. aiguë ou chronique des graines sera très peu marquée mais il faudra tenir compte de possibles effets indésirables précités.

7.1 Remarques

- La quantité de graines contenues dans 1 cuillérée à café correspond environ à 2 g.
  La Nigelle étant une épice au goût très aromatique, nous pouvons supposer que dans les pays consommateurs, une personne consomme au maximum l'équivalent d'une c. à café/jour dans l'alimentation et ceci de façon sporadique.
- Dans ces 2 g de graines il y a :
  - 32% d'huile, soit 640 mg d'huile (694,9 ml)
  - 0,5% d'huile essentielle contenant en moyenne 21% de TQ ; soit 10 mg d'HE et 2 mg de TQ
  - 31,7% de para-cymène dans les 10 mg d'HE ; soit 3,7 mg de para-cymène
  - 9,3% d'α-pinène dans les 10 mg d'HE ; soit 0,93 mg d' d'α-pinène
- Or, chez la souris :
  - La DL_{50} de l'huile par voie orale est de 26,52 g/kg
  - La DL_{50} de l'HE par voie i.p. est de 1,853 g/kg
  - La DL_{50} de la TQ par voie orale est de 2,4 g/kg
  - La DL_{50} du para cymène par voie orale est de 1,523 g/kg
  - La DL_{50} de l'α-pinène par voie orale est de 1,726 g/kg

7.2 Discussion

- Bien qu'il soit impossible d'extrapoler ces résultats à l'homme, si nous les calculions pour un homme de 60 kg, nous sommes très loin des quantités consommées en tant qu'épice.
  Et cette façon de consommer la Nigelle est bien trop faible pour avoir une toxicité chez l'homme d'autant plus :
  - qu'elle intervient aussi souvent crue que cuite (grillée sur des pains) ce qui modifie encore la composition.
  - qu'elle est ingérée et que nous avons vu plus haut que par voie orale la TQ (composé le plus susceptible d'être toxique) est métabolisée par certaines enzymes du tractus gastro-intestinal en métabolites moins actifs.

8 Conclusion

- La toxicité de la Nigelle est pratiquement nulle en ce qui concerne la consommation des graines, de l'huile ou de l'extrait aqueux. Il faudra tout de même tenir compte des effets indésirables possibles (voir chapitre suivant).
- Seules la TQ et l'HE possèdent une toxicité chez la souris en injection i.p. Celle-ci sera d'autant plus importante si la TQ est solubilisée dans une phase huileuse.
  La toxicité par v.o. de la TQ sera bien moindre grâce à une inactivation enzymatique hépatique ; nous pouvons supposer qu'il en ira de même pour l'HE dont la TQ, lorsqu'elle en est le composant majoritaire, est le principal agent toxique.
- Ces études toxicologiques sont incomplètes car nous n'avons aucune donnée concernant :
  - la mutagénicité
  - la tolérance cutanée de l'huile
  - les effets tératogènes des autres extraits
  - la toxicité de l'HE par voie orale.
- A propos du déficit neurologique minimal, les TD_{50} sont 2 à 6 fois inférieures aux DL_{50}.
  Nous remarquons que c'est pour l'huile que ces 2 valeurs sont les plus proches ; c'est-à-dire que le déficit neurologique ne se manifestera que pour des doses proches des doses létales. Nous aurons donc peu de chance de le voir apparaître à des dosages raisonnables.
  Pour la TQ, le déficit neuronal minimum se manifestera à une dose 7 fois moins importante que la dose létale. Ceci confirme ce qui avait été vu dans le chapitre concernant l'effet sur le système nerveux central, à savoir que la TQ est la principale responsable de cet effet.

CHAPITRE 5

ESSAIS CLINIQUES

1 Actions sur différents paramètres

1.1 Protocole

1.1.1 Traitements

Les essais ont été menés chez des hommes (2 groupes, n = 8 et n=10) (**[104]** 2000) et des femmes (2 groupes de 9) (**[103]** 2002) volontaires sains de moyenne d'âge 22 ans.
Pour chaque sexe, par voie orale et pendant 14 jours :

- le 1er groupe recevait 2 g/jour de graines broyées réparties en 2 prises quotidiennes de 2 capsules de 500 mg
- le 2ème groupe recevait l'équivalent en huile contenu dans 2 g de graines c'est à dire : 125 mg d'huile 2 fois par jour (en capsules).

1.1.2 Evaluations

Des prélèvements sanguins effectués avant la 1ère prise, et à la fin de chaque semaine permirent de doser :

- les taux de glucose, cholestérol, triglycérides**, HDL*,
- les globules, les plaquettes, l'hémoglobine, le temps de saignement*,
- la créatinine*, la créatine kinase
- les transaminases**, l'alcaline phosphatase**, γ-GT**,
- la prolactine

* et ** : dosages réalisés seulement chez l'homme ou chez la femme, respectivement.

1.2 Résultats

Dans la plupart des cas et heureusement, les paramètres dosés après prise de Nigelle ne s'écartent pas au-delà des valeurs normales.

1.2.1. Glycémie (valeurs normales 70 à 105 mg/dl à jeun **[62]**)

Chez l'homme comme chez la femme on observe (voir ***tableau 39***) :

- à la fin de la 1ère semaine : une baisse importante transitoire de la glycémie
- à la fin de la 2ème semaine : cette baisse s'atténue sans toutefois revenir aux valeurs initiales.

Il est possible que la glycémie retrouve des valeurs normales au delà des 14 jours mais la durée de l'expérience ne nous permet pas de l'envisager.
Il n'y a pas de différence significative entre l'effet des graines et de l'huile.
L'effet est plus marqué chez la femme, et l'on peut considérer qu'il est important, car nous nous approchons voire nous dépassons les valeurs limites inférieures.

- Il serait nécessaire de prolonger l'expérience pour réellement voir si cet effet hypoglycémiant n'est que transitoire car chez un sujet non diabétique ceci peut être un effet indésirable gênant et devra être surveillé. (cf. chapitre suivant)
  Il serait intéressant de tester la Nigelle chez des sujets souffrant de diabète gras.

Tableau 39 : *Effet des graines et de l'huile de Nigelle sur la glycémie (mg/dl) chez l'homme et la femme* ***[104] [103]***

temps	GRAINES		HUILE	
	homme	femme	homme	femme
0	99,10 ± 15,20	76,31 ± 1,53	90,70 ± 14,51	78,93 ± 1,45
1 semaine	62,60 ± 20,71*	63,00 ± 2,17***	63,60 ± 17,72**	62,93 ± 1,36***
2 semaines	86,80 ± 28,90°	67,81 ± 1,42***	79,60 ± 10,41**	68,53 ± 1,20***

°: P ≤0,1 (non significatif) ; * : P≤0,05 ; ** : P≤0,01 ; *** : P≤0,001 par rapport au temps 0.

1.2.2 Lipides sanguins (voir *tableau 40*)

- **Cholestérol** (valeurs normales entre 20 et 44 ans : 130 à 240 mg/dl **[62]**)
  - Chez la femme, le taux de cholestérol diminue de façon significative et régulière durant les 14 jours de l'étude par prise de Nigelle : baisse de 11,14% et 13,18% à l'issue de l'expérience avec les graines ou l'huile respectivement par rapport au jour 0 (P≤0,001). La prise de l'un ou de l'autre n'entraîne pas de différence significative.
  - Chez l'homme, le taux de cholestérol baisse significativement au bout d'une semaine (de 13,6% et de 25,9% avec les graines et l'huile), pour remonter à la fin de la 2ème où les taux ne sont plus significativement différents du jour 0.
- **Triglycérides** (valeurs normales chez l'adulte : 35 à 175 mg/dl **[62]**)
  Chez la femme, le taux de triglycérides augmente tout au long de la prise de graines ou d'huile.
  Rappelons que les études pharmacologiques chez le rat ont montré une baisse des triglycérides par prise de poudre et d'huile par v.o.
- **HDL** (valeurs normales entre 20 et 49 ans : 37 à 82 mg/dl **[62]**)
  Chez l'homme, l'évolution du taux de HDL est en rapport avec celui du cholestérol : élévation significative et transitoire au bout d'une semaine ; et à l'issue de l'expérience retour à des valeurs non significativement différentes de celles du jour 0.

Tableau 40 : *Effet des graines et de l'huile de Nigelle sur les lipides sanguins chez l'homme et la femme* ***[104] [103]***

paramètres	temps	GRAINES		HUILE	
		homme	femme	homme	femme
cholestérol (mg/dl)	0	175,70 ± 47,62	147,81 ± 3,99	206,51 ± 62,40	166,60 ± 6,58
	1 semaine	151,82 ± 43,00**	134,69 ± 3,96*	153,02 ± 40,83*	149,40 ± 5,31°
	2 semaines	172,21 ± 48,91°	127,81 ± 3,95**	177,00 ± 49,83°	140,73 ± 6,39**
HDL (mg/dl)	0	46,91 ± 3,10	—	50,11 ± 3,61	—
	1 semaine	56,42 ± 7,00**	—	59,51 ± 5,91*	—
	2 semaines	48,11 ± 4,20°	—	52,32 ± 7,12°	—
triglycérides (mg/dl)	0	—	80,69 ± 3,34	—	93,27 ± 3,48
	1 semaine	—	92,00 ± 3,17*	—	102,13 ± 3,56°
	2 semaines	—	112,25 ± 3,89***	—	111,27 ± 4,07***

°: P ≤0,1 (non significatif) ; * : P≤0,05 ; ** : P≤0,01 ; *** : P≤0,001 par rapport au temps 0.

- ➢ C'est chez la femme que l'effet hypocholestérolémiant est le plus marqué.
  Chez l'homme les effets bénéfiques sur le taux de cholestérol et d'HDL ne sont que transitoires pour presque revenir aux valeurs initiales au bout de 14 jours.
  Il aurait été nécessaire :
  - d'étudier l'effet de la Nigelle sur le taux de HDL chez la femme
  - de refaire cette expérience à plus long terme et avec des sujets plus âgés qui ont généralement tendance à souffrir d'hyperlipidémies.
  - de réévaluer les effets sur les triglycérides chez l'homme comme chez la femme.

1.2.3 Cellules sanguines et hémostase

L'expérience n'a été réalisée que sur une semaine chez l'homme, sauf en ce qui concerne le temps de saignement (2 semaines). (voir ***tableau 41***)

- **Globules blancs** (GB) (valeurs normales chez l'adulte : 4 à 10 x10^9/L **[62]**)
  - Chez la femme : L'absorption d'huile entraîne une élévation non significative. L'absorption de graines entraîne une élévation devenant significative au bout de 14 jours (P≤0,001).
    Ceci pourrait être dû à la présence de certains composés hydrosolubles dans les graines comme les protéines.
  - Chez l'homme : pas de modification significative au bout d'une semaine. La durée de l'expérience est certainement trop courte pour voir un effet.

- **Globules rouge** (GR) (valeurs normales : 4 à 5,7 x 10^{12}/L **[62]**)
  Chez l'homme comme chez la femme : pas de modification significative.

- **Hémoglobine** (Hb) (valeurs normales : 12,5 à 17 g/dl **[62]**)

  Chez l'homme comme chez la femme : pas de modification significative au bout d'une semaine, mais qui pourrait le devenir au-delà de 14 jours.

- **Plaquettes** (Plq) (valeurs normales chez l'adulte : 160 à 350 x10^9/L **[62]**)
  - Chez la femme : pas de modification significative.
  - Chez l'homme : baisse non significative par prise d'huile ou de graines au bout d'une semaine mais qui aurait pu le devenir si l'expérience avait été prolongée.

- **Temps de saignement** (valeurs normales : 2 à 4 minutes **[62]**)
  Chez l'homme : les valeurs de base sont déjà élevées et l'effet de la Nigelle sur le temps de saignement est controversé avec :
  - la prise de graines qui crée une élévation non significative au bout d'une semaine et une élévation significative au bout de 2 semaines.
  - la prise d'huile qui crée une baisse significative au bout d'une semaine et une élévation non significative au bout de 2 semaines.

Tableau 41 : *Effet des graines et de l'huile de Nigelle sur les cellules sanguines et l'hémostase chez l'homme et la femme* ***[104] [103]***

paramètres	temps	GRAINES		HUILE	
		homme	femme	homme	femme
GB ($x10^9$/L)	0	7,16 ± 1,40	7,09 ± 0,46	7,53 ± 1,53	7,450 ± 0,334
	1 semaine	7,19 ± 1,87°	7,49 ± 0,38	7,80 ± 1,30°	8,030 ± 0,414
	2 semaines	—	8,53 ± 0,47*	—	8,260 ± 0,398
GR ($x10^{12}$/L)	0	5,33 ± 0,26	4,88 ± 0,15	5,49 ± 0,26	4,45 ± 0,18
	1 semaine	5,27 ± 0,25°	5,05 ± 0,18	5,45 ± 0,35°	4,64 ± 0,12
	2 semaines	—	5,33 ± 0,18	—	4,86 ± 0,11
Hb (g/dl)	0	14,67 ± 1,04	12,08 ± 0,31	15,41 ± 1,43	12,25 ± 0,18
	1 semaine	14,42 ± 0,83°	12,39 ± 0,32	15,03 ± 1,35°	12,64 ± 0,18
	2 semaines	—	12,98 ± 0,30*	—	13,06 ± 0,17**
Plq ($x10^9$/L)	0	255,00 ± 63,91	280,69 ± 12,68	270,00 ± 44,61	279,40 ± 14,25
	1 semaine	241,36 ± 82,62°	287,06 ± 11,79	264,00 ± 47,82°	301,80 ± 15,00
	2 semaines	—	300,88 ± 13,07	—	293,47 ± 16,68
tps saigne--ment (minute)	0	05:23 ± 0,76	—	06:15 ± 1,10	—
	1 semaine	05:43 ± 1,24°	—	05:24 ± 0,77**	—
	2 semaines	08:06 ± 0,99**	—	07:12 ± 1,43°	—

°: P ≤0,1 (non significatif) ; * : P<0,05 ; ** : P≤0,01 ; *** : P≤0,001 par rapport au temps 0.

➢ Des modifications significatives peuvent apparaître suite à la prise de Nigelle concernant :
- le taux d'hémoglobine : nous restons dans les normes mais il est impossible d'envisager l'évolution de ce taux lors d'une prise plus longue.
- le temps de saignement : les valeurs de base se situent déjà au-delà des normes ; et la prise de graines de Nigelle élève encore ce temps de saignement.

La modification du taux de plaquettes, non significative au bout d'une semaine de prise, pourrait le devenir au-delà.
Donc attention dans certaines pathologies ou en association avec certains médicaments (cf. chapitre suivant).
Rappelons que ces phénomènes ont été remarqués lors des études pharmacologiques chez l'animal.
Le taux de globules blancs peut augmenter mais ceci est plutôt en faveur d'une amélioration des défenses immunitaires (le contraire avait été noté par administration d'huile au rat).

1.2.4. Enzymes (voir *tableau 42*)

- **Créatine kinase** (CK) : son taux augmente lors d'atteinte cardiaque ou musculaire. (valeurs normales : 15 à 130 UI/L **[62]**)
  - Chez l'homme : pas de modification significative.
  - Chez la femme : au bout d'une semaine, les 2 traitements entraînent une élévation significative de son activité et ceci est aboli à la fin de la 2ème semaine par la prise de graines alors que l'huile renforce cette élévation.

- **Transaminases** (valeurs normales chez la femme : 10 à 35 UI/L **[62]**)
  Chez la femme alors que les graines ne modifient pas leur activité enzymatique sérique, la prise d'huile aboutit au bout de 2 semaines à une élévation significative. Celle-ci est plus marquée pour l'AST (P≤0,001) que pour l'ALT (P≤0,05).
  Mais dans les 2 cas nous restons bien au dessous des valeurs limites supérieures.

- **γ-Glutamyl transférase** (valeurs normales chez la femme : 7 à 28 UI/L **[62]**)
  Chez la femme: son activité sérique est augmentée dès la 1ère semaine par les 2 traitements et se prolonge à l'issue des 14 jours avec une élévation plus marquée avec l'huile (P≤0,001).
  Ici encore nous sommes très en dessous des valeurs limites supérieures.

- **Phosphatase alcaline :** son taux s'élève lors de cholestase. (valeurs normales : 60 à 170UI/L **[62]**)
  Chez la femme : On observe une élévation significative et transitoire au bout d'une semaine (P≤0,01). Elle est suivie d'une baisse qui ramène à des valeurs inférieures à celles du temps 0.

Tableau 42 : *Effet des graines et de l'huile de Nigelle sur certaines enzymes chez l'homme et la femme* ***[104] [103]***

paramètres	temps	GRAINES		HUILE	
		homme	femme	homme	femme
CK (U/L)	0	56,92 ± 7,61	13,87 ± 0,54	55 ± 10,01	19,40 ± 0,82
	1 semaine	55,41 ± 6,50°	18,64 ± 1,91***	58,82 ± 11,02°	22,61 ± 0,89*
	2 semaines	55,80 ± 5,76°	15,88 ± 1,85	58,82 ± 11,02°	28,67 ± 0,93***
ALT (U/L)	0	—	12,69 ± 0,49	—	13,67 ± 0,62
	1 semaine	—	12,50 ± 0,43°	—	14,20 ± 0,46°
	2 semaines	—	13,25 ± 0,55°	—	16,20 ± 0,46*
AST (U/L)	0	—	11,63 ± 0,58	—	12,33 ± 0,56
	1 semaine	—	11,50 ± 0,38°	—	12,40 ± 0,50°
	2 semaines	—	12,81 ± 0,36°	—	15,47 ± 0,56***
Alc.P (U/L)	0	—	93,38 ± 2,40	—	110,69 ± 5,47
	1 semaine	—	104,94 ± 2,49**	—	143,33 ± 7,59**
	2 semaines	—	73,19 ± 2,04***	—	97,07 ± 5,45°
γ-GT (U/L)	0	—	7,44 ± 0,39	—	8,33 ± 0,54
	1 semaine	—	8,81 ± 0,44**	—	9,93 ± 0,56*
	2 semaines	—	9,81 ± 0,47***	—	11,47 ± 0,56**

°: P ≤0,1 (non significatif) ; * : P≤0,05 ; ** : P≤0,01 ; *** : P≤0,001 par rapport au temps 0.

- La prise de Nigelle peut augmenter certaines activités enzymatiques hépatiques, surtout celle du γ-GT après prise de graines ; ceci tout en restant toujours dans les valeurs normales. Les études toxicologiques avaient montré de telles variations chez le rat suite à la prise de Nigelle, mais l'histologie du foie était intacte, donc ces effets sont certainement peu importants mais devront être surveillés lors de prises prolongées. Des travaux complémentaires seraient nécessaires.
  La CK, marqueur d'une atteinte cardiaque ou musculaire, s'élève chez la femme après prise d'huile alors que chez l'homme cet effet n'est que transitoire avant un retour à des valeurs normales. Cet effet serait à réévaluer lors d'une prise plus prolongée.

1.2.5 Créatinine (valeurs normales : 0,7 à 1,3 mg/dl **[62]**)

Chez l'homme, le taux de créatinine sanguine est abaissé tout au long de l'expérience par la prise de Nigelle, avec P≤0,01 à la 2ème semaine. (voir ***tableau 43***)
Ceci pourrait résulter de l'amélioration de la filtration glomérulaire comme cela a été noté lors des études pharmacologiques chez le rat.

Tableau 43 : *Effet des graines et de l'huile de Nigelle sur le taux de créatinine sanguine (mg/dl) chez l'homme.* ***[104]***

temps	GRAINES	HUILE
0	1,00 ± 0,10	0,97 ± 0,08
1 semaine	0,95 ± 0,08*	0,93 ± 0,07*
2 semaines	0,94 ± 0,10**	0,91 ± 0,08**

* : P≤0,05 ; ** : P≤0,01 ; par rapport au temps 0.

1.2.6 Prolactine (valeurs normales : 2 à 15 ng/ml chez l'homme ; 3 à 20 ng/ml chez la femme **[62]**)

Voir les résultats dans le ***tableau 44***.

- Chez l'homme : l'ingestion de graines et d'huile provoque au bout de 14 jours une baisse très importante du taux de prolactine respectivement de 49,7% (P≤0,05) et de 37,4% (P≤0,01).
- Chez la femme : les 2 traitements diminuent très fortement le taux de prolactine tout au long de l'expérience avec une baisse de 52% (P≤0,001) par prise de graines ou d'huile.

Tableau 44 : *Effet des graines et de l'huile de Nigelle sur le taux de prolactine sanguine (ng/ml) chez l'homme et la femme.* ***[104][103]***

temps	GRAINES		HUILE	
	homme	femme	homme	femme
0	14,40 ± 4,60	5,26 ± 0,29	12,37 ± 5,21	5,26 ± 0,38
1 semaine	15,41 ± 7,52°	3,66 ± 0,19***	15,78 ± 5,21°	3,46 ± 0,22***
2 semaines	9,02 ± 4,93°	2,55 ± 0,15***	6,22 ± 1,60*	2,54 ± 0,17***

°: P ≤0,1 (non significatif) ; * : P≤0,05 ; *** : P≤0,001 par rapport au temps 0.

- La prolactine est l'hormone de la lactation mais elle est également impliquée dans d'autres phénomènes comme la croissance et l'immunité. Attention donc à une prise de Nigelle qui diminue le taux de prolactine chez l'enfant (son taux élevé chez l'enfant, diminue pour ré augmenter à la puberté) et surtout à la puberté où l'élévation de la prolactinémie serait en relation avec le développement des caractères sexuels secondaires.
  Par contre, une baisse de la prolactinémie peut être favorable chez l'homme lors de certains cancers (prostate) où il est observé une élévation du taux de prolactine.

1.3 Discussion

- Malheureusement la durée de l'expérience (14 jours) est trop courte, mais elle a permis de constater des corrélations presque systématiquement avec les études pharmacologiques.
- Certains de ces effets seront plutôt bénéfiques :
  - Baisse du cholestérol et des triglycérides et élévation de HDL
  - Baisse de la créatinine
  - Elévation du nombre de globules blancs
  - Baisse du taux de prolactine (recherchée dans certains cas)
- D'autres effets seront à surveiller ou donneront lieu à des précautions d'emplois (cf. chapitre suivant) :
  - Baisse de la glycémie
  - Modulation de la coagulation sanguine, des plaquettes et de l'hémoglobine
  - Possible élévation des transaminases et du γ-GT
  - Baisse du taux de prolactine.

- Dans tous les cas, il est très important de repréciser que ces essais ont été réalisés chez des volontaires sains. Nous ne pouvons pas envisager les effets biologiques de la prise de Nigelle chez des sujets souffrants de pathologies (diabète, cholestérol). Ces effets seront-ils alors plus marqués ? Ainsi il serait nécessaire de réévaluer, par exemple, l'effet hypocholestérolémiant chez un patient en hyperlipidémie, l'effet hypoglycémiant chez un porteur de diabète gras ou l'effet de la Nigelle chez un insuffisant rénal.
  Ces essais cliniques sont très insuffisants ; mais ils sont intéressants pour mettre en garde contre d'éventuels effets indésirables. (voir chapitre suivant)

2 Action dans l'allergie

Ces travaux étudient l'effet de la Nigelle sur le ressenti subjectif des symptômes de l'allergie. (**[111]** 2003)

2.1 Protocole

L'étude a été réalisée sur 152 personnes (enfants et adultes) souffrant d'allergie.
Le produit testé est une huile de Nigelle égyptienne commercialisée en Allemagne par Phyt-Immun en capsule gélatineuse sous le nom de IMMERFIT®.
La composition est la suivante : huile de Nigelle : 500 mg ; vitamine E : 6 mg ; béta-carotène : 1,5 mg ; biotine : 70 µg.
Pour chaque étude, les effets indésirables du traitement par l'huile ont été notés.

2.1.1 Etude I : étude randomisée en double aveugle contre placebo

- **Personnes :** 63 enfants de 6 à 17 ans souffrant de rhinite allergique, eczéma atopique et asthme bronchique n'ayant jamais été traités par corticoïdes.
- **Traitement :** 1 capsule 3 fois par jour d'huile, ce qui équivaut environ à 40 mg/kg (41patients) ; ou de placebo (22 patients) pendant 8 semaines.
- **Evaluation :**
  - dosage sanguin des taux d'immunoglobulines E et d'éosinophiles.
  - ressenti subjectif des symptômes : amélioration présente ou non.

2.1.2 Etude II : étude libre

- **Personnes :** 49 enfants de 6 à 15 ans porteurs d'eczéma atopique (n=6), d'asthme bronchique (n=6) ou de rhinite allergique saisonnière (n=45).
- **Traitement :** 2 capsules 3 fois par jour d'huile pendant 6 à 8 semaines (cela équivaut à 80 mg/kg/jour).
- **Evaluation :** sévérité subjective des symptômes avant et après traitement

2.1.3 Etude III : étude randomisée en double aveugle contre placebo

Le traitement n'est pas précisé donc nous ne pourrons considérer cette étude réalisée chez 20 patients de 15 à 65 ans (12 femmes et 8 hommes) souffrant de rhinite allergique.

2.1.4 Etude IV : étude libre

- **Personnes :** 20 adultes de plus de 18 ans (15 femmes et 5 hommes) ayant des rhinites allergiques
- **Traitement :**
  - pour les personnes de moins de 75 kg : 3 capsules 2 fois/jour pendant 28 jours.
  - pour des personnes de plus de 75 kg : 4 capsules 2 fois/jour pendant 28 jours.

- **Evaluation :**
  - l'amélioration subjective des symptômes
  - dosages :
    - du cortisol plasmatique et urinaire
    - des sous populations lymphocytaires
    - de l'ACTH

2.2 Résultats

2.2.1 Etude I (voir *tableau 45*)

- Il a été noté une aggravation chez un enfant du groupe traité par placebo.
  Un enfant a souffert de problèmes gastro-intestinaux suite au traitement par l'huile de Nigelle.
- Une différence significative (P<0,05) est apportée par le traitement par l'huile de Nigelle par rapport au placebo concernant l'amélioration générale des symptômes et ceux de la rhinite et de l'asthme.
- Le taux sanguin d'IgE et d'éosinophile n'est pas significativement modifié par la prise d'huile de Nigelle.

  ➢ L'huile de Nigelle est plus efficace pour améliorer les symptômes de la rhinite et de l'asthme ; son effet n'est pas significatif dans l'eczéma.

Tableau 45 : *Effet de l'huile de Nigelle sur les symptômes de l'allergie.* ***[111]***

symptômes	% d'amélioration observée	
	huile	placebo
généraux	61%*	40%
rhinite	81%*	45%
asthme	67%*	0%
eczéma	33%	33%

*** :** significativement différent du groupe traité par placebo avec P<0,05

2.2.2 Etude II

- Les différences significatives observées par rapport au groupe non traité (P<0,05) concernent :
  - l'amélioration générale des symptômes : chez 76% des patients
  - l'amélioration de la rhinite : chez 78% des patients
  - l'amélioration de l'asthme : chez 67% des patients
- Pour les personnes souffrant d'eczéma, l'huile de Nigelle procure seulement 50% d'amélioration (non significatif) contre 33% sans amélioration, et 17% (c'est-à-dire une personne) présentant une aggravation.
- Effets indésirables : 9 enfants sur 49 se sont plaints de troubles gastro-intestinaux lors de la prise de 3 capsules 2 fois /jour sur estomac vide ; ceci correspond à la dose de 80 mg/kg, ce qui est donc trop élevé chez les enfants : il ne faudrait pas dépasser 40 mg/kg.

  ➢ Dans cette étude où les doses ont été doublées, l'effet n'est toujours pas significatif sur l'eczéma et engendre des effets indésirables. Comme dans l'étude précédente, la Nigelle est plus efficace pour diminuer les symptômes de la rhinite et de l'asthme.

2.2.3 Etude IV

- Le score des symptômes ressentis diminue continuellement et significativement (P=0,017) par rapport au groupe non traité grâce à la prise d'huile de Nigelle.
- Aucun effet indésirable n'est remarqué.
- Les dosages ne montrent pas de modification significative des sous populations lymphocytaires et des hormones adréno-corticoïdes.

2.3 Discussion

- L'amélioration des symptômes est observée dans les différentes études et le meilleur effet s'exerce chez les patients souffrant de rhinite allergique (études I et II). Les symptômes de l'asthme sont également bien diminués (étude II).
- L'effet est bien moindre dans les problèmes d'eczémas atopiques et l'amélioration n'est pas significative par rapport aux groupes placebo ou non traité.
- Le mécanisme d'action n'est pas étudié ici mais les auteurs suggèrent, d'après les travaux effectués chez les animaux, que plusieurs phénomènes pourraient contribuer à cet effet sur les allergies :
  - l'inhibition de la cyclo-oxygénase et de la lipoxygénase, en particulier parce que les leucotriènes sont très impliqués dans le déclenchement de l'inflammation asthmatique
  - l'inhibition de la libération d'histamine par les mastocytes de rat grâce à la nigellone (probablement par inhibition de la protéine kinase C). L'histamine intervient dans divers symptômes de l'allergie : la rougeur de la peau par dilatation des vaisseaux sanguins, les démangeaisons par irritation des terminaisons des nerfs sensitifs, et par augmentation de la perméabilité des muqueuses d'où une plus grande tendance à la formation d'oedèmes.
  - son action anti-inflammatoire.
- L'huile de Nigelle semble très intéressante dans le traitement des rhinites allergiques et de l'asthme.
- Il faudra respecter la dose de 40 mg/kg d'huile chez les enfants pour éviter les problèmes gastro-intestinaux et administrer l'huile au cours d'un repas.
- Chez l'adulte, aucun effet indésirable n'a été remarqué mais on pourra appliquer le même dosage voire l'augmenter momentanément à 80 mg/kg.

3 Action antiparasitaire

La Nigelle est traditionnellement utilisée comme anti-parasitaire.
Elle a ici été testée chez des enfants parasités par des cestodes. (**[8]** 1991)

3.1 Protocole

L'étude regroupe 36 enfants de moins de 12 ans naturellement parasités par de multiples cestodes dont principalement par *Taenia saginata* et *Hymenolepsis nana*.
Ils sont divisés en 6 groupes de 6 :

- Groupe 1 : contrôle non traité
- Groupe 2 : témoin positif recevant par v.o. une dose unique de 50 mg/kg de niclosamide (Yomesan®)
- Groupe 3 : recevant par v.o. une dose unique de 20 mg/kg de poudre de graines de Nigelle
- Groupe 4 : recevant par v.o. une dose unique de 30 mg/kg de poudre de graines de Nigelle
- Groupe 5 : recevant par v.o. une dose unique de 40 mg/kg de poudre de graines de Nigelle
- Groupe 6 : recevant par v.o. une dose unique d'extrait éthanolique de graines de Nigelle équivalent à 40 mg/kg de poudre.

L'évaluation se fait par comptage du nombre d'oeufs par gramme de fécès avant et au 3ème, 7ème ou 15ème jour après traitement.

3.2 Résultats

Le traitement par la graine de Nigelle aux doses de 20, 30 et 40 mg/kg réduit significativement le nombre d'oeufs dans les fécès. (P<0,01) (voir ***tableau 46***)
Nous obtenons un pourcentage de réduction d'oeufs similaire au témoin positif, 7 et 15 jours après traitement par la poudre de Nigelle à la dose de 40 mg/kg ou de son équivalent en extrait éthanolique.

Tableau 46 : *Effet de la prise par v.o. de graines de Nigelle contre les cestodes chez les enfants.* ***[8]***

traitement	nombre d'œufs par gramme de fécès				% de réduction		
	jour 0	jour 3	jour 7	jour 15	jour 3	jour 7	jour 15
1	1826 ± 312	1910 ± 400	1991 ± 416	2015 ± 416			
2	2275 ± 210	1050 ± 315*	672 ± 201*	262 ± 182*	53 ± 6	74 ± 4	89 ± 4
3	2350 ± 352	1625 ± 233*	1175 ± 178*	1005 ± 166*	32 ± 3	50 ± 2	58 ± 4
4	1950 ± 305	1300 ± 211*	800 ± 200*	575 ± 166*	33 ± 5	59 ± 3	68 ± 3
5	1952 ± 129	1107 ± 73*	427 ± 66*	155 ± 40*	43 ± 3	78 ± 4°	92 ± 3°
6	1750 ± 167	733 ± 733*	340 ± 46*	130 ± 32*	58 ± 2	80 ± 4°	93 ± 3°

*** :** significativement différent des résultats au jour 0 (avant traitement) ,P<0,001
°: non significativement différent du groupe 2 (t émoin positif) avec P>0,05

3.3 Discussion

- La poudre de Nigelle ainsi que son extrait éthanolique à la dose unique par v.o. de 40 mg/kg est un traitement visiblement très efficace contre les parasitoses à cestodes chez les enfants.
- La prise n'a pas entraîné d'effet indésirable.
- L'usage traditionnel de la Nigelle dans ce type de parasitose est confirmé par les travaux ci-dessus.

4 Action chez la femme

4.1 Action abortive

En 1988 Siddiqui et al. enregistraient une action abortive (70%) après administration de 2 doses de 30 g de **poudre** espacées de 48 heures chez la femme. **[117]**
La dose absorbée est ici très importante néanmoins nous contre-indiquerons la prise de Nigelle chez la femme enceinte.

4.2 Action sur la prolactine

La prolactine est une hormone qui, chez la femme, est responsable entre autre de la production de lait après l'accouchement.
Nous avons vu plus haut que la prise par v.o. de 2 g/jour de graines broyées ou de son équivalent en huile chez la femme pendant 14 jours réduisait de 52% le taux de prolactine dans le sang. **[103]**

Ceci est en contradiction avec le fait que la Nigelle soit traditionnellement utilisée pour favoriser la montée de lait après l'accouchement ; à moins que cette différence ne vienne de l'imprégnation hormonale qui modulerait l'effet de la Nigelle chez la femme allaitante par rapport à la femme non allaitante.

La baisse du taux de prolactine pourrait expliquer l'utilisation traditionnelle de la Nigelle dans les douleurs liées aux règles puisqu'une hyperprolactinémie favorise ces troubles.

5 Conclusion

- Nous détaillerons plus loin le réel intérêt de la Nigelle dans le traitement du diabète, des rhinites allergiques et de l'asthme, des parasitoses, de l'hypercholestérolémie et voire pour améliorer les fonctions rénales.
- D'après les essais cliniques de l'huile de Nigelle contre les allergies, la posologie maximale dénuée d'effets indésirables serait 40 mg/kg/jour chez l'enfant et l'adulte.
  Concernant la graine, la même dose de 40 mg/kg/jour n'a entrainé aucun effet indésirable chez les enfants traités. Nous pouvons donc penser qu'elle peut être légèrement augmentée chez l'adulte (80 mg/kg/jour).
  Dans tous les cas une prise prolongée sera déconseillée chez l'enfant et devra être surveillée chez l'adulte.
- Nous allons voir plus loin les précautions d'emploi et les contre-indications résultant de ces essais cliniques.

6 Résumé des effets cliniques

Voici résumées les activités observées en cliniques dans de le ***tableau 47***.

Echelle de l'activité :	++++	:	forte
	+++	:	assez bonne
	++	:	moyenne
	+	:	légère
	0	:	nulle ou non significative
	—	:	non déterminée

Tableau 47 *: Résumé des effets cliniques de la Nigelle.*

EFFETS CLINIQUES	GRAINES	HUILE	REMARQUES
Hypoglycémiant	+++	+++	Effet transitoirement marqué.
Hypolipémiant			
hypocholestérolémiant	+++	+++	Transitoire chez l'homme.
hypotriglycéridémiant	0	0	
Sur les paramètres du sang			
élévation des globules blancs	+	0	
élévation de l'hémoglobine	+	++	
modification des plaquettes	0	0	
élévation du temps de saignement	+++	0	
Sur l'activité enzymatique			
élévation de la créatine phosphokinase	+	+	Pas d'effet chez l'homme.
élévation de ALT	0	+	
élévation de AST	0	++	
élévation de la phosphatase alcaline	+	+	Effet transitoire.
élévation du γ-GT	++	+	
Baisse de la créatinine sanguine	++	++	Effet transitoire avec les graines.
Baisse de la prolactine sanguine	++++	++++	
Diminution des symptômes allergiques			
rhinite	—	+++	
asthme	—	++	
éczéma	—	0	
Antiparasitaire	++++	—	Extrait éthanolique : ++++
Abortif	++++	—	A dose élevée uniquement.

Discussion

En essais cliniques, les graines ont été beaucoup plus étudiées et lorsqu'elles l'ont été parallèlement à l'huile (étude de l'effet sur les différents paramètres **[103] [104]**), la différence d'activité n'est pas flagrante. Ceci peut nous étonner puisque les graines renferment des composés absents dans l'huile (saponosides et alcaloïdes).
Cette constatation provient certainement du protocole mis en place ; car dans ces études :

- la prise de Nigelle était beaucoup trop courte
- le dosage était faible
- les sujets étaient sains, ce qui a pu minimiser les variations physiologiques.

Il aurait été intéressant d'évaluer l'activité antiparasitaire de l'huile (existante chez l'animal) et l'effet des graines sur les allergies.

CHAPITRE 6

EFFETS INDESIRABLES

1 Selon les essais cliniques

Ces effets sont survenus après la prise par v.o. d'huile ou de graines de Nigelle dans un but médicinal.
Lors d'un usage condimentaire et ponctuel des graines (donc à des doses très inférieures et parfois cuites) nous ne retrouveront pas ces effets.

1.1 Effets indésirables

1.1.1 A faible dose

Ceci a été observé pour une dose ≤ 2 g/jour de graines ou une dose de 250 mg/kg/jour d'huile.

- **Effet hypoglycémiant**
  Il est très manifeste bien que transitoire et il peut engendrer des malaises.
- **Modification de l'hémostase**
  On a pu observer une élévation du temps de saignement.
- **Baisse du taux de prolactine**
  Elle peut être recherchée dans certains cas.
- **Légère élévation des transaminases et du γ-GT** sans répercussion hépatique, à surveiller.

1.1.2 A doses élevées

- **Effets abortifs** (pour une dose par v.o. de 60 mg de graines en 2 prises).
- **Troubles gastro-intestinaux** : chez des enfants pour des doses supérieures à 40 mg/kg.

1.2 Précautions d'emploi

La durée des essais cliniques était beaucoup trop courte et les modifications observées peuvent être transitoires. Tout de même, d'après les travaux actuels nous conseillerons chez les sujets sensibles :

- Un suivi des transaminases et du γ-GT lors d'une prise prolongée.
- Un suivi de l'hémostase lors de la prise d'anticoagulants ou en présence de pathologies de la coagulation.
- Chez l'enfant de ne pas dépasser la dose de 40 mg/kg/jour et d'éviter un usage prolongé en raison des effets sur la prolactine.
- Chez la femme allaitante : malgré son usage traditionnel pour favoriser la montée de lait ; nous déconseillerons un usage prolongé de l'huile ou de la graine de Nigelle à des fins médicinales puisqu'elle diminue le taux de prolactine chez la femme non allaitante.

1.3 Contre-indications

Nous avons vu les effets abortifs de la graine de Nigelle (à forte dose). Même si cela a été observé après administration de deux doses environ 10 fois supérieures à celles recommandées pour un usage médicinal, la prise de Nigelle sera contre-indiquée chez la femme enceinte.

2 Selon les études pharmacologiques

Ces effets pharmacologiques observés chez l'animal n'ont pas été testés en essai clinique. Ils seraient susceptibles de se manifester chez l'homme :

- **effet sédatif sur le système nerveux central :**
  Ceci a été nettement démontré chez le rat après administration d'huile, d'extrait aqueux ou méthanolique et de TQ. **[116]**

- **effets hypotenseur et bradycardisant :**
  Ces deux phénomènes se sont manifestés suite à l'administration d'HE ou de TQ chez le rat anesthésié **[75]** mais il a été démontré que l'huile chez le rat stimulait les récepteurs β_2 adrénergiques et désensibilisait les récepteurs α_1 adrénergiques : ceci favorise l'hypotension. **[74]**

- **effet bronchoconstricteur**
  Il apparaît seulement après administration de TQ et ne serait gênant qu'en cas d'utilisation directe de la TQ en thérapeutique. Sa présence dans la graine (maximum 0,1%) ou dans l'huile (0,05% à 0,15%) est trop faible pour que l'effet se manifeste. **[44]**

3 Selon la pharmacovigilance

Deux cas ont été signalés suite à un usage externe de l'huile de Nigelle :

- Le premier a été reporté en 1997 **[160]** chez un homme de 28 ans sans antécédents allergiques.

Afin de traiter des maux de gorge, il a appliqué localement sur le cou pendant 3 mois l'huile pure de Nigelle et un liquide à base de plantes nommé "Schwedenkreuther" de contenu inconnu.
Ceci peut paraître étonnant mais il faut savoir que l'huile de Nigelle vendue en magasin est souvent rangée aux côtés d'autres huiles végétales conseillées pour leur usage externe. Comme l'huile de Nigelle est recommandée pour lutter contre les infections nous voyons le genre d'erreur qui survient par manque de conseils avisés.
Suite à cela, le sujet a présenté un eczéma maculopapulaire qui est apparu sur le cou et s'est étendu aux bras et au dos. Un traitement local à base de corticoïdes l'a éliminé en 14 jours.
Le test allergique a été réalisé avec un patch imprégné soit de solution liquide de plantes (réaction négative), soit de différentes dilutions d'huile (diluée au 1/10ème ou au 1/50ème) avec une réaction positive pour les 2 dilutions.

Nous remarquons que l'article parle d'utilisation d'huile sans jamais préciser s'il s'agit de l'huile ou de l'HE et nous pouvons supposer qu'il s'agit bien de l'huile puisque c'est l'extrait qui est commercialisé (nous n'avons pu répertorier qu'un seul revendeur d'HE et les HE ne sont jamais recommandées en applications locales pures). Or les auteurs concluent en évoquant le danger d'utiliser les HE : il y a là une grande confusion.
De toutes les façons, les HE pures en application sont presque toutes potentiellement irritantes ou allergisantes et en aucun cas elles ne devraient être appliquées directement sans être diluées dans une huile végétale au préalable.

D'autre part nous pouvons penser qu'il y a là une erreur d'utilisation de la part du patient car en cas d'infection ORL, l'huile est conseillée en usage interne. Toute médication, allopathique ou phytothérapique nécessite des recommandations et il est facile de discriminer un produit lorsqu'un problème apparaît suite à un usage fantaisiste par le patient.

- Un autre cas est cité avec la même confusion en 2002 **[171] :** une femme de 31 ans sans antécédent allergique a présenté un eczéma sur les 2 mains pendant 8 mois.

Durant cette période et particulièrement avant l'exacerbation de la dermite, elle appliquait sur les mains un baume à base d'HE extraite des graines de Nigelle (selon l'article). L'affection fut rapidement résorbée par des corticoïdes locaux.
Les tests d'allergie ont été réalisés par application de patchs imprégnés de différents produits utilisés par la patiente, et par des graines de nigelle pressées à froid. La réaction fut positive uniquement pour ce dernier patch. Les auteurs concluent de la même façon en soulignant le danger d'utiliser les HE.

Or voici 2 remarques :
- Nous n'avons répertorié aucun produit cosmétique à base d'HE de graines de Nigelle et il s'agit plutôt de l'huile.
- Les graines pressées à froid produisent l'huile et non l'HE. Seule une infime partie d'HE se retrouve dans l'huile.

Discussion

Il est impossible de conclure étant donné les confusions importantes relevées dans ces 2 articles qui ne visent certainement qu'à discriminer les produits phytothérapiques.

Il est vrai qu'aucune étude n'a été faite pour évaluer la tolérance cutanée de l'huile alors qu'elle est presque aussi couramment utilisée en usage externe qu'interne. L'huile de Nigelle est en général appliquée pour traiter les maladies de peau telles que eczémas et brûlures. Cet emploi local se pratique depuis des décennies et jusque là, aucune réaction cutanée n'a été répertoriée. Donc elle doit bénéficier d'une bonne tolérance cutanée. Ceci pourrait même justifier le fait que cette tolérance n'ait jamais été évaluée.

CHAPITRE 7

UTILISATIONS

1 Usages culinaires

1.1 Les usages

Dans la cuisine, seule la graine de *Nigella sativa* est utilisée.
L'arome marqué de ces graines tient du citron, du poivre et du sassafras.
Du point de vue géographique, ses usages culinaires s'étendent sur une bande allant du nord-est de l'Afrique jusqu'en Inde voire au-delà.
Elle est toujours employée comme condiment et aromate dans différents plats où on la fera d'abord griller à sec pour rehausser ses aromes. On peut citer par exemple son usage en substitut du poivre dans les sauces ou pour aromatiser des légumes en Inde (aubergines essentiellement).
Dans certaines régions de l'Inde et au Bangladesh, les graines de Nigelle rentrent dans la composition d'un mélange d'épices très populaire pour parfumer les plats de viandes. On le nomme 'Panch Phoron' (cinq épices) ; il associe graines de : Nigelle, Cumin, Fenugrec, Moutarde noire et Fenouil, en quantités égales. **[106c]**
Les graines de Nigelle aromatisent souvent les pains (notamment en Turquie) mais aussi les fromages (Syrie et Arménie).
Elles sont mélangées au miel ou à un sirop pour être ensuite incorporées à de nombreuses pâtisseries ou pour constituer une pâte à tartiner. **[161]**
En association à d'autres épices les éthiopiens en font des boissons alcoolisées aromatiques. **[106b]**
La Nigelle peut aussi parfumer certains vinaigres. **[14]**

1.2 Valeur nutritionnelle

En 1997 des travaux réalisés en Jordanie **[161]** évaluaient l'intérêt nutritionnel des graines de Nigelle provenant de différents pays (Inde, Syrie, Turquie, Jordanie) :

- **En vitamines :** Dans l'étude de la composition chimique nous faisions remarquer la richesse des graines en vitamines du groupe B : B_2, B_3, B_6 et particulièrement B_1.
- **En minéraux :** Comparée à d'autres graines oléagineuses telles que noisettes, amandes, pistaches…la graine de Nigelle à une teneur particulièrement intéressante en fer, zinc et phosphore.
- **En protéines :** Les auteurs s'intéressent ici à la qualité nutritionnelle des protéines de Nigelle en l'intégrant à l'alimentation de rats et en évaluant : l'utilisation protéique nette (reflète l'azote ingéré qui est retenu par le corps) et le ratio protéique efficient qui est le rapport du gain de poids corporel de l'animal sur la quantité de protéines consommées.
  Ils en concluent que la graine de Nigelle représente une bonne source qualitative et quantitative de protéines.
- **Comparaison par rapport à d'autres graines oléagineuses :** Les graines de Nigelle sont plus riches en fibres et en glucides ; par contre de leur moindre teneur en lipides découle un plus faible apport calorique. (confère ***tableau 48***)

Tableau 48 : *Comparaison de la composition des graines de Nigelle avec celle d'autres graines oléagineuses, calculée sur 1kg de matière sèche.* ***[161]***

graine	protéine en g	lipides en g	glucides en g	fibres en g	cendres en g	énergie en kcal
amande	195	567	177	28	32	6750
pistache	213	572	165	20	29	6770
sésame	212	545	147	53	43	6590
tournesol	266	479	154	59	43	6260
nigelle	216	406	249	84	45	5510

1.3 Discussion

De par ses teneurs en vitamines B, minéraux, lipides et par la qualité de ses protéines, la graine de Nigelle constitue une bonne source complémentaire de nutriments essentiels. Son incorporation dans les aliments pour améliorer leur valeur nutritionnelle est tout à fait intéressante.

2 Usages traditionnels

2.1 Les usages

Nous les avons cités en partie dans le chapitre pharmacologie. Les voici regroupés géographiquement.

Les nombreux usages médicinaux de la Nigelle lui valurent l'attribution du nom arabe : 'Habbatul barakah' signifiant : "la semence de la bénédiction". En effet, cette plante a été utilisée dans les pays du Proche à l'Extrême Orient depuis des siècles pour traiter les maladies comme : l'asthme bronchique, la bronchite, les rhumatismes et douleurs inflammatoires associées, pour augmenter la production de lait chez la femme allaitante, pour traiter les désordres digestifs et favoriser l'élimination, pour stimuler le système immunitaire et lutter contre les infestations parasitaires.

Les formes galéniques les plus utilisées sont :

- Les graines broyées ou réduites en poudre qui sont ensuite ingérées ou utilisées en application locale (mélangées ou non à d'autres ingrédients).
- L'huile est beaucoup utilisée par voie interne ou externe (en application sur les affections cutanées comme l'eczéma, les furoncles et l'acné par exemple)
- Les graines broyées ou la poudre peuvent être inhalées contre les affections respiratoires.

La tisane ou l'extrait aqueux sont peu employés.

- **En médecine arabe** :
  Les graines sont utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète. **[126]**
- **En Algérie** :
  Les graines grillées sont mélangées à du beurre et administrées pour traiter la toux ou à du miel en cas de colique.
- **Au Koweït :**
  On les utilise traditionnellement pour contrôler l'épistaxis (saignements de nez). **[2]**
- **Au Pakistan** :
  Les graines de Nigelle entreraient dans le traitement des congestions de poitrine, des dysménorrhées, des infections mycosiques et bactériennes, des paralysies et hémiplégies. **[89]**
- **En Turquie :**
  Les graines broyées sont saupoudrées sur les vêtements de laine comme répellant. **[106b]**
- **En Inde :**
  Elles sont mélangées à des purgatifs pour aider à tuer et expulser les parasites. **[106c]**
  En médecine ayurvédique (indienne), la saveur de la graine de Nigelle est décrite comme étant âcre, amère, chaude et aromatique. Elle rentre dans le traitement des tempéraments "vata" et ses actions seraient : carminative, digestive, appétante, stimulante, déodorante, diurétique, sudorifique, fébrifuge, antidiarrhéique, anthelminthique, expectorante et galactogogue. Elle est aussi utilisée dans toutes les pathologies citées précédemment. **[106c]**
- **Au Maroc :**
  Le remarquable travail de compilation de J.Bellakhdar qui a parcouru le Maroc pour ensuite rédiger "La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle" **[39]** nous apporte des précisions quant aux préparations galéniques :
  - La poudre de graines fraîchement moulues est inhalée en cas de rhume, grippe, migraine, sinusite, affection pulmonaire et asthme.
  - Cette poudre est appliquée sur les dents en cas de rage dentaire.
  - Elle est incorporée dans une pommade et appliquée sur les verrues, cors, dartres et vitiligo ; on l'utilise également en application dans l'hémiplégie, la paralysie des membres et la paralysie faciale.
  - Contre les hémorroïdes, la graine est employée en fumigations ou incorporée à des suppositoires.
  - Par voie orale et à faible dose, la poudre agirait en tant que galactogogue, emménagogue, réchauffant, fortifiant, antinauséeux, vermifuge, antipyrétique et antidote des poisons et des venins.

2.2 Discussion

Les utilisations traditionnelles principales concernent la lutte contre les infections (parasitaires, intestinales et respiratoires), la digestion, l'hypertension, le diabète et les usages chez la femme (allaitement, dysménorrhée).

La Nigelle est une plante médicinale déjà recommandée dans des textes très anciens et citée dans le Coran comme "pouvant soigner tous les maux".
Pendant des siècles et encore aujourd'hui dans quelques parties du monde, les rites religieux et la médecine ont été ou sont indissociables, et ce genre de citation confère à une plante une sorte "d'auréole" qui conduit au fil des siècles à élargir ses propriétés médicinales et ses usages à l'infini…
Restons prudents et observons ces différents emplois traditionnels à la lumière des travaux pharmacologiques et des essais cliniques.

2.2.1 Usages selon les essais cliniques

Les quelques essais cliniques ont confirmé l'usage de la Nigelle dans les pathologies suivantes :

- **Les parasitoses et les vers**
  Cela a été plus particulièrement montré contre les cestodes (*Taenia*) chez l'enfant avec de bons résultats.
  Nous pouvons supposer que l'effet s'étend à d'autres parasitoses car d'après les auteurs cette propriété serait due principalement à l'action immunostimulante de la Nigelle.
  Ce sont les graines broyées qui sont recommandées par v.o., à la dose de 40 mg/kg.

- **Le cholestérol**
  Cela a été observé après ingestion de graines ou d'huile. Bien qu'aucune différence significative d'activité n'ait été notée, nous recommanderons préférentiellement la prise d'huile de par sa richesse en acides gras polyinsaturés.
  Concernant la baisse des taux de TG, les études pharmacologiques montraient un effet bénéfique de la graine et de l'huile de Nigelle qui n'a pas été retrouvé en essai clinique.

- **L'asthme et les rhinites saisonnières**
  L'huile de Nigelle réduit leurs symptômes chez l'homme.
  Les études pharmacologiques chez l'animal révélaient l'intérêt de la Nigelle par une action sur les composantes majeures de la pathologie :
  - Effet bronchodilatateur (la crise d'asthme débute par un bronchospasme)
  - Effet anti-inflammatoire sur les muqueuses nasales et bronchiques (la phase inflammatoire est l'évènement tardif de la crise d'asthme)
  - Action antihistaminique qui permettra de traiter la composante allergique

  Rappelons l'effet bronchoconstricteur de la TQ démontré en pharmacologie et restons vigilant malgré la faible présence de la TQ dans la graine et l'huile de Nigelle.

- **Le diabète**
  Même si l'effet hypoglycémiant n'a été observé que chez des patients non diabétiques nous pouvons confirmer son usage traditionnel dans cette pathologie. En effet les études pharmacologiques chez différentes espèces animales sont unanimes et elles ont révélé une action de la Nigelle à plusieurs niveaux (pancréatiques et extra-pancréatiques).

- **Les règles douloureuses (dysménorrhées)**
  La baisse de la prolactinémie après ingestion de graines ou d'huile serait en faveur d'une amélioration des phénomènes douloureux liés aux règles.
  D'autres activités pharmacologiques de la Nigelle retrouvées chez l'animal pourraient y contribuer :
  - L'effet relaxant de la Nigelle sur certains muscles lisses et notamment sur le muscle utérin.
  - Les effets antalgiques
  - Une activité diurétique (contre la rétention d'eau prémenstruelle)

  On pourrait recommander la Nigelle dans certaines aménorrhées.
  Attention : La Nigelle est susceptible d'augmenter l'écoulement menstruel : nous avons vu dans les essais cliniques qu'elle tend à augmenter le temps de saignement.

2.2.2 Usages selon les études pharmacologiques

Bien des usages traditionnels font appel à des activités retrouvées lors des études chez l'animal**.** Même si il est difficile d'extrapoler ces résultats à l'homme, ils engagent fortement à réaliser d'autres essais cliniques.
Ainsi la Nigelle pourrait être intéressante dans les cas suivants :

- **Toute pathologie associée à une forte production de radicaux libres**
  La Nigelle, par ses propriétés antiradicalaires sera utile dans les pathologies infectieuses et inflammatoires, pour lutter contre le vieillissement et contre certains agents toxiques.
  C'est certainement par cet effet que la Nigelle est traditionnellement utilisée comme "antidote des venins et poisons". Mais le terme d'antidote est excessif car si la Nigelle peut effectivement protéger les organes (foie, reins et cœur) contre le stress oxydatif engendré par le toxique, elle ne pourra cependant pas contrecarrer tous ses effets.

- **Pour un effet immunostimulant**
  L'huile a un certain effet immunostimulant ; la partie protéique de la graine semble avoir aussi ses propres effets ; donc nous conseillerons de consommer les graines pour bénéficier de toutes les propriétés.
  Ceci confirme l'intérêt de la Nigelle comme traitement complémentaire de la pathologie infectieuse par exemple.
  De cet effet sur l'immunité découle certainement les qualifications de stimulant et fortifiant bien que :
  - la Nigelle soit plutôt sédative donc non tonique, le terme de stimulant n'est pas correct
  - le terme fortifiant serait plus juste car il englobe l'apport nutritionnel de la graine

  La notion de réchauffant est quant à elle liée à la saveur piquante de la Nigelle.

- **Dans les pathologies inflammatoires et douloureuses**
  Les études pharmacologiques sont unanimes quant à l'action anti-inflammatoire et antalgique de la Nigelle aussi bien par utilisation d'huile que de graines.
  Ceci confirmerait l'usage traditionnel dans les migraines, les rhumatismes et les douleurs inflammatoires.
  Un effet anti-inflammatoire local a même été obtenu après application d'HE chez la souris ce qui pourrait aller dans le sens de l'usage local de la poudre de graines de Nigelle pour soulager les rages dentaires mais nous serons plus réservé à ce sujet.

- **Comme anti-infectieux**
  L'activité antivirale de la Nigelle s'exerce vraisemblablement par stimulation de l'immunité.
  Les effets antibactériens de la Nigelle sont surtout liés à la présence de TQ ou d'HE. L'huile est active dans une moindre mesure.
  Ceci est moins vrai dans les infections mycosiques où l'extrait aqueux améliore sensiblement la candidose de la souris.
  Dans tous les cas les effets immunostimulants seront mis à contribution.
  C'est donc pour cela que la graine ou l'huile de Nigelle sont utilisées à juste mesure dans les infections ORL et bronchiques, qu'elles soient bactériennes ou virales (rhume, grippe, bronchite…) et dans les infections mycosiques.
  Puisque la TQ inhibe la croissance de tous les germes opportunistes de la peau, la Nigelle est utilisée localement (graines broyées ou huile) dans certaines infections cutanées : mycoses, furoncles, verrues … reste à savoir si leur concentration en TQ sera suffisante.
  Dans l'acné, l'huile peut aider par son effet anti-inflammatoire et antibactérien.
  Il faudra alors s'assurer de son innocuité.
  Cette action anti-infectieuse de l'HE est utilisée à juste titre comme répellant dans certains pays (les graines broyées sont saupoudrées).

- **Phénomènes associés aux pathologies bronchiques et ORL**
  Dans certains pays du Maghreb la graine de Nigelle est écrasée et respirée pour soulager les problèmes ORL comme le rhume, la sinusite, ou dans les infections bronchiques comme anti-tussif ou expectorant.
  Les études pharmacologiques chez le cobaye montrent un effet anti-tussif après inhalation d'un aérosol à base d'extrait aqueux de Nigelle.
  Lorsqu'on écrase les graines, seuls les principes actifs volatiles de l'HE seront inhalés et parmi ceux-ci citons le thymol et le carvacrol, 2 molécules puissamment anti-infectieuses. Mais les variations de la composition de l'HE sont telles que ces molécules ne sont pas toujours présentes. Cette inhalation pourra donc traiter la toux et éventuellement l'infection des voies aériennes, par contre rien ne laisse à penser que la Nigelle puisse avoir un effet expectorant.

- **Comme anti-hypertenseur et diurétique**
  L'action hypotensive a été observée chez le rat par action centrale et diurétique modérée. Ceci pouvait être accompagné d'un effet bradycardisant.
  L'amélioration des fonctions rénales avait été montrée par ailleurs chez le rat vieillissant et lors de toxicité rénale iatrogène.
  Chez l'homme la Nigelle tend à réduire le taux de créatinine sanguine ce qui peut indiquer une meilleure filtration glomérulaire.
  En médecine traditionnelle il est mentionné l'usage de la Nigelle pour favoriser l'élimination, ce qui pourrait être confirmé par ces différentes indications.
  Citons le cas par exemple d'une personne âgée hypertendue où les propriétés antiradicalaires de la Nigelle s'ajouteraient à ses effets hypotenseurs et diurétiques pour prévenir le vieillissement rénal tout en surveillant les possibles effets indésirables précités.

- **Dans les problèmes digestifs**
  Les activités gastriques, hépatiques et intestinales collaborent étroitement au confort digestif donc toute action de la Nigelle à l'un de ces niveaux améliorera la digestion.
  Un effet cholérétique de l'huile avait été noté chez le chien (l'usage traditionnel de la Nigelle comme appétant pourrait provenir de là).
  Les colites et ulcères gastriques sont efficacement traités chez le rat par la TQ mais aussi par l'huile dans le cas de l'ulcère. L'extrait aqueux a également montré un léger effet protecteur.
  L'effet relaxant sur le muscle lisse du jéjunum isolé de lapin peut expliquer l'usage traditionnel dans les coliques et diarrhées (mais il n'y a pas d'effet antidiarrhéique à proprement parler) et contre les flatulences comme carminatif.
  L'effet antinauséeux n'a pas été recherché (il implique un mécanisme central).

2.2.3 Usages non confirmés

- **Usages pour lesquels aucune étude n'a été réalisée**
  - Utilisation dans la paralysie et l'hémiplégie : l'intérêt de la Nigelle semble peu probable.
  - Contre les hémorroïdes : les effets veinotoniques n'ont pas été recherchés
  - Comme antinauséeux
  - Certaines affections cutanées comme le vitiligo, les dartres et les cors. Concernant ces 2 dernières affections, l'huile de Nigelle en application locale pourrait avoir un effet adoucissant et nourrissant bénéfique.

- **Usages pour lesquels les études ne permettent pas de conclure**
  - Contre les saignements de nez : nous avons vu que la Nigelle pouvait augmenter le temps de saignement chez l'homme. De plus un effet coagulant mais aussi anti-coagulant transitoire a été observé chez le rat dans les études pharmacologiques, ainsi qu'une baisse du nombre de plaquettes..
  - Pour favoriser la montée de lait : la pharmacologie révélait chez la rate une action galactogogue propre à la partie lipidique de la graine de Nigelle. Par contre l'huile et la graine de Nigelle diminuent chez la femme non allaitante le taux sanguin de l'hormone de la lactation (prolactine) donc nous ne pouvons confirmer cet usage. Chez la femme allaitante la Nigelle devra être utilisée avec prudence (petites doses sur de courtes périodes) ou en tant qu'épice.
  - Comme fébrifuge et sudorifique : des résultats pharmacologiques contradictoires ne permettent pas de conclure quant à une action antipyrétique.
    La Nigelle module la libération de cytokines, ceci pourrait contribuer à cette action.
    Une baisse relative de la température corporelle peut également être obtenue par action sudorifique. La Nigelle pourrait agir de cette façon car la saveur piquante est souvent associée à un effet sudorifique.
  - Eczéma : chez l'homme l'huile de Nigelle par voie orale n'améliore pas significativement les symptômes de l'eczéma. Son usage traditionnel en application locale n'a jamais fait l'objet d'études particulières.

2.2.4 Remarques

- **Variations de la composition**
  La composition de l'HE de Nigelle et sa teneur en TQ sont sujettes à de grandes variations. Ceci aura des répercussions sur les propriétés de la graine ou de l'huile de Nigelle liées principalement à ces 2 composants.
  Ainsi l'activité anti-infectieuse sera la 1ère concernée et nous verrons de grandes variations de son efficacité.
  Ceci explique d'ailleurs les usages traditionnels particuliers à un pays ou à une région comme par exemple le fait de respirer les graines broyées lors d'infection ORL au Maroc. Ceci pourrait être lié à une plus grande concentration en thymol ou carvacrol dans l'HE de Nigelle de ces pays.
  Heureusement :
  - la teneur en HE est faible donc cela minimise l'impact de ces variations.
  - la plupart du temps un effet pharmacologique donné est retrouvé suite à l'administration d'autres extraits comme l'huile ou les graines broyées, car la TQ est finalement présente en plus ou moins grandes proportions dans tous les extraits étudiés à l'exception de l'extrait aqueux (qui est lui-même très peu utilisé).

- **Effet antitumoral**
  La TQ est très étudiée en tant qu'antitumoral, cytotoxique et anticarcinogène.
  Là nous ne sommes plus dans le domaine de l'usage traditionnel : la TQ est l'un des innombrables principes actifs de végétaux testés afin de trouver de nouvelles molécules anticancéreuses.
  Mais rappelons que très rares sont les molécules pharmacologiquement actives chez l'animal ou *in vitro* qui ont donné naissance à des médicaments chimiothérapiques.

3 Formes galéniques commercialisées en France et indications

La Nigelle est commercialisée sous forme de graines dans les épiceries fines pour l'usage culinaire et aromatique et chez les grainetiers pour l'usage horticole.
Pour les usages médicinaux en France, nous trouvons presque uniquement l'huile en flacon (pour un emploi interne ou externe) ou en capsule.
L'huile peut aussi être incorporée à des produits cosmétiques.

3.1 Produits et laboratoires

Il va sans dire qu'il existe de nombreux producteurs d'huile de graines de Nigelle soit dans les pays où celle-ci pousse, soit ailleurs, et alors les graines sont importées pour être transformées (en Allemagne par exemple).
Avec la vente par Internet, l'huile de Nigelle peut être actuellement vendue dans le monde entier.
En France, la commercialisation de l'huile de Nigelle remonte à quelques années seulement et elle connaît actuellement un essor. Voici les principaux laboratoires qui commercialisent l'huile de Nigelle en magasin diététique, herboristerie ou sur les salons de médecines naturelles (les coordonnées des entreprises sont répertoriées dans l'**Annexe II**).
Dans la plupart des cas cette huile provient de l'Egypte qui est vraisemblablement le principal pays fournisseur de l'Europe.

- **HUILES ET BAUMES- MAXIMILIANO BUSTOS** (en vente sur les salons de médecines naturelles et par correspondance)
  - **Huile** pure, 1ère pression à froid de graines de *Nigella sativa* issue de culture biologique en flacon de 30 ou 125 ml
  - **Capsules** à 500 mg d'huile pure de graines de *Nigella sativa* de 1ère pression à froid issue de culture biologique

- **L'ARBRE DE VIE**
  - **Huile** pure, 1ère pression à froid de graines de *Nigella sativa* issue de culture biologique en flacon de 100ml.
  - **Capsules** à 500 mg d'huile pure de graines de *Nigella sativa* de 1ère pression à froid issue de culture biologique.

- **Dr THEISS-NATURWAREN** (filiale française de la société allemande Naturwaren)
  - **Capsules** à 420 mg d'huile de graines de *Nigella sativa* de 1ère pression à froid

Composition	Par capsule	Pour 100 g
Huile de Nigelle :	420 mg	66,8 g
VitamineE :	12 mg	1,9 g
Béta-carotène :	4 mg	636 mg
Biotine :	70 µg	11 mg

- **MELVITACOSM**
  - **huile** pure, 1ère pression à froid de graines de *Nigella sativa* issue de culture biologique en flacon de 50 ml.

- **ATLANTIC NATURE** : c'est une société qui au départ était spécialisée dans la vente de compléments alimentaires d'origine marine. Elle a récemment élargi son marché au Maghreb.
  - **Capsules** à 500 mg d'huile pure de graines de *Nigella sativa* de 1ère pression à froid

- **ALTER AFRIQUE :** produits issus du commerce équitable, vente par commerce électronique.
  - **Huile :** composition : huile de graines de *Nigella sativa* de 1ère pression à froid ; vitamine C : 0,25 % ; vitamine E : 0,25 % vendue en flacon de 100 ou 200 ml.
  - **Capsules :** composition par capsule : 500 mg d'huile de graines de *Nigella sativa* ; 12 mg de vitamine E.
    L'huile est mise en capsule en Allemagne.
  - **Crème pour le visage à l'huile de Nigelle**
    Elle est fabriquée en Allemagne à partir d'huile de Nigelle d'Egypte.
  - **Savon à l'huile de Nigelle**
    Il est fabriqué au Maroc et est constitué d'huile de palme, d'huile de Nigelle et d'hydroxyde de sodium.

- **LUDMILLA DE BARDO**
  - **Huile** pure de 1ère pression à froid de graines de *Nigella sativa*.
    Elle a la particularité d'être conditionnée sous vide en flacon doseur de 100 ml, chaque micropression délivre une dose de 0,5 ml.

3.2 Posologie

L'huile en flacon est recommandée aussi bien pour un usage interne qu'externe.
La posologie recommandée par les différents fabricants pour l'usage interne d'huile de Nigelle est de 2 à 4 capsules à 500 mg par jour au milieu du repas pour un adulte et de 1 à 2 capsules par jour pour un enfant.
L'huile peut être prise à raison d'une cuillérée à café par jour à la fin d'un repas (ou de 2 à 4 micropression pour le produit de L.De Bardo).

- ➢ D'après les études cliniques nous recommanderons de respecter la règles de posologie suivante : 40 mg/kg/jour d'huile ou de graines.

3.3 Indications

3.3.1 Usage interne

- **Indications principales**
  Ces indications sont celles qui accompagnent presque toujours la vente d'huile de Nigelle en boutique :
  - Stimulation des défenses immunitaires
  - Allergies respiratoires (asthme, rhinites)
  - Digestion
  - Infections hivernales

- **Indications secondaires**
  Elles sont indiquées sur les sites Internet de ces laboratoires, elles ne seront pas systématiquement mentionnées lors de la vente en magasin :
  - Pour un effet antioxydant
  - Pour un effet anti-inflammatoire
  - Comme antihypertenseur
  - Diabète
  - Cholestérol
  - Mycoses
  - Comme diurétique
  - Pour une amélioration de la flore intestinale

3.3.2. Usage externe

En application l'huile serait nourrissante, adoucissante, régénérante, calmante, anti-inflammatoire.
Ses indications sont :

- Les brûlures et les coups de soleil
- L'acné
- Les mycoses cutanées et autres infections
- Les dermatites et l'eczéma
- Les gerçures
- Pour assainir le cuir chevelu et nourrir les cheveux

La crème et le savon cités plus haut sont conseillés pour les peaux sensibles et irritées, normales et sèches.

3.4 Remarques

Nous n'avons pu répertorier qu'une seule entreprise (Nature Craft, basée aux Etats Unis) qui commercialise via Internet toute une série d'HE dont celle de graines de Nigelle en provenance d'Egypte.
Nous n'avons pu obtenir aucune autre information (indications, chémotype…). Nous avons contacté d'autres laboratoires commercialisant l'huile de Nigelle, ceux-ci n'ont pas connaissance de vente d'HE de Nigelle.
Nous n'avons pas non plus trouvé de produit cosmétique contenant de l'HE de Nigelle.

3.5 Conclusion

- Concernant l'usage externe, l'usage de l'huile de Nigelle dans certaines affections cutanées est fondé. D'après les études pharmacologiques, la graine de Nigelle possède des effets anti-inflammatoires locaux et pourrait donc être bénéfique dans les dermites et les brûlures.
  De par ses acides gras l'huile de Nigelle sera adoucissante et nourrissante aussi bien pour la peau que pour les cheveux.
  Nous pouvons penser que son effet antibactérien permettra d'assainir le cuir chevelu.
- Concernant les indications internes, nous avons déjà commenté ces effets auparavant.
  En fait nous remarquons que la réputation médicinale de la Nigelle en France repose sur ses effets immunostimulants.
  L'effet antiparasitaire bien réel de la Nigelle n'est pas mentionné dans les indications car il ne concerne que peu de personnes en France comparé aux pays où pousse la Nigelle. Les exigences commerciales du marché français font que d'autres indications ont été mises en avant : ce sont ces indications "principales" telles que nous les avons nommées.
- Parmi tous ces produits, aucune recommandation particulière ne figure sur l'emballage (hormis la posologie). Du point de vue commercial donc la Nigelle n'est pas déconseillée chez telle ou telle personne.
- **<u>Il nous semble indispensable que la vente de Nigelle pour un usage médicinal soit accompagnée des recommandations suivantes :</u>**
  - Contre indication chez la femme enceinte
  - Possible effet hypoglycémiant

Conclusion

La graine de Nigelle, épice et plante médicinale très renommée de l'Afrique du nord à l'Asie, mérite-t-elle cette qualification de "panacée" comme cela a pu apparaître dans quelques textes arabes anciens ?

La richesse de sa composition est certaine : c'est une des rares plantes dont les graines contiennent à la fois une huile grasse (environ 30%) et une huile essentielle (environ 0,5%) avec un principe actif majeur : la thymoquinone (jusqu'à 24%).
La Nigelle est une plante à alcaloïdes, sa graine en renferme 3 types différents : isoquinoléiques, indazoliques et diterpéniques de type-dolabellane.
Elle contient aussi des saponosides dont la génine est l'α-hédérine et des hétérosides de flavonols.
Dans l'huile, les acides gras polyinsaturés et d'autres constituants comme les stérols, les phospholipides et les glycolipides ainsi que la thymoquinone, contribuent à son activité biologique. Rappelons que l'huile ne contient ni saponosides, ni flavonoïdes, ni alcaloïdes.

En France, nous pouvons acheter la graine en tant qu'épice dans des épiceries spécialisées. Ces graines aromatiques donnent une saveur particulière aux pains et aux pâtisseries.
Par ailleurs, en France et en Europe, la vente d'huile de Nigelle dans un but médicinal se développe et, de plus en plus, nous la voyons apparaître sur les rayons des magasins diététiques, conditionnée en capsule ou en flacon, pour un usage interne ou externe. A la vente, ses principales indications sont la stimulation des défenses immunitaires, la lutte contre les infections hivernales et les allergies printanières.

Ces indications sont à revisiter et à élargir puisque les essais cliniques ont révélé pour l'huile des actions : hypocholestérolémiante, hypoglycémiante et une baisse de la prolactinémie certainement favorable dans les phénomènes de règles douloureuses.
En plus de ces effets cliniques, la pharmacologie montre des actions : anti-inflammatoire, antalgique, immunostimulante, anti-infectieuse, hypotensive, bronchodilatatrice, anti-allergique, antiulcéreuse gastrique, galactogogue, utérorelaxante et antiparasitaire.
Certaines des propriétés pourraient être dues à la présence de thymoquinone (anti-infectieuse, anti-inflammatoire et antalgique) même si l'huile n'en renferme que 0,05% à 0,15%.
A ce jour les études toxicologiques réalisées concluent à une faible toxicité aiguë et chronique de l'huile de Nigelle chez l'animal. Parmi ses composants, seule la thymoquinone à forte dose et en injection intra-péritonéale serait susceptible d'être mal tolérée, mais sa teneur dans l'huile est faible. De plus l'huile est administrée par voie orale, or la toxicité de la thymoquinone est très atténuée après métabolisation hépatique.
Cette huile semble bénéficier d'une bonne tolérance en usage interne chez l'animal et elle n'est pas tératogène chez la rate. La toxicité relative à la mutagénèse n'a pas été mesurée.

La graine est parfois consommée broyée ou en poudre, pour un usage médicinal dans les pays d'origine.
Chez l'animal nous avons noté ses activités anti-inflammatoire et hypolipémiante. Les effets obtenus avec l'extrait aqueux des graines montrent des actions antitussives, bronchodilatatrices, antispasmodiques et antifongiques.
Les essais cliniques avec la graine sont plus nombreux et signent des actions : hypoglycémiante, hypolipémiante, antiparasitaire ainsi qu'une baisse de la prolactinémie et de la créatinine sanguine (amélioration de la filtration glomérulaire).
Sa toxicité chez l'animal est très faible.

Les études sur la Nigelle, très nombreuses ces dernières années, répertorient un grand nombre d'activités. Ceci découle certainement de la particularité chimique de ses graines qui, mis à part leur huile, renferment une huile essentielle et un composé actif, la thymoquinone.
Cette molécule a fait l'objet de multiples recherches et la plupart des propriétés pharmacologiques précédemment citées ont été retrouvées pour la thymoquinone. D'autres lui sont propres : action anticonvulsivante et anticolitique.

Les chercheurs portent une attention particulière aux possibles effets antitumoraux de la thymoquinone. Elle a effectivement une action cytotoxique sur de nombreuses lignées cancéreuses animales ou humaine *in vitro* et réduit significativement l'incidence de certaines tumeurs animales.
Ce travail sur la Nigelle aura révélé ce principe actif majeur. Nous sommes là dans le cas de l'utilisation d'un composé pur en vue d'un éventuel usage thérapeutique. Cette molécule mérite qu'on lui consacre des recherches complémentaires ; ainsi que des études toxicologiques plus poussées puisqu'elle est potentiellement toxique chez la souris en injection intra-péritonéale.
Nous regrettons que les alcaloïdes n'aient pas été plus étudiés, seul leur effet sur les triglycérides sanguins a été démontré.

En général, les usages traditionnels de la Nigelle les plus souvent cités dans les différents pays sont confirmés par les études cliniques ou pharmacologiques (sauf certains emplois plus régionaux comme ceux dans les paralysies, l'hémiplégie ou comme hémostatique qui ne sont pas du tout justifiés).
.
Cependant, notre travail met en évidence des effets indésirables à prendre réellement en considération lors d'un usage médicinal de la graine ou de l'huile de Nigelle.
Le principal effet indésirable à surveiller sera un éventuel effet hypoglycémiant chez des sujets non diabétiques ; des travaux supplémentaires seraient d'ailleurs nécessaires pour savoir si cet effet est transitoire ou non.
Mais attention : les études aussi bien pharmacologiques (par administration par v.o. d'huile chez la rate gestante) que cliniques (par administration orale de graines chez la femme) ont révélé un effet abortif de la Nigelle à dose plus élevée. Chez la femme il est obtenu par administration de 2 doses ponctuelles environ 10 fois supérieures à celles utilisées quotidiennement lors d'un usage médicinal. Ceci conduira à contre-indiquer la Nigelle à dose thérapeutique chez la femme enceinte. L'usage ponctuel en tant qu'épice restera tout de même possible.

Au vu des effets obtenus chez l'animal, les perspectives médicinales de l'huile de Nigelle sont donc très prometteuses mais les essais cliniques manquent.
Il serait intéressant de confirmer les actions anti-inflammatoire, antalgique, immunostimulante, anti-infectieuse, antiparasitaire (retrouvée en clinique pour les graines) et hypotensive chez l'homme et de préciser les effets hypoglycémiant, antiallergique et hypocholestérolémiant déjà obtenus.
Nous remarquons le manque de documentation sur les propriétés de l'huile de Nigelle en application externe alors que cet emploi est très courant en médecine traditionnelle.
Il faudra prendre en compte les variations de la composition chimique de l'huile essentielle et de sa teneur en thymoquinone suivant les conditions environnementales ; ceci pourra avoir un impact sur l'efficacité de l'huile de Nigelle en ce qui concerne certaines propriétés (anti-infectieuse principalement) liées à la thymoquinone ou à l'huile essentielle.

Si les activités pharmacologiques étaient confirmées par des essais cliniques, l'usage médicinal de la graine de Nigelle permettrait de traiter plusieurs composantes d'une même pathologie. Nous pouvons citer quelques exemples : pathologie inflammatoire avec douleurs et production de radicaux libres ; maladie infectieuse et baisse des défenses immunitaires, risques cardiovasculaires avec cholestérol, hypertension et hyperhomocystéinémie.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Grenoble, le 03 mai 2005

LE DOYEN :

P.DEMENGE

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER GRENOBLE 1 U.F.R. DE PHARMACIE

LE PRESIDENT DE LA THESE :

A.M. MARIOTTE

Mariotte

Bibliographie

[1] **ABDEL-FATTAH A.F.M. ; MATSUMOTO K. ; WATANABE H.**
Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice.
Eur.J.Pharmacol. 2000 : 400 89-97

[2] **ABOU-HOZAIFA B.M.**
Effect of *Nigella sativa* L. and thymoquinone on rat platelet aggregation.
Saudi Pharm. J. 2002 : 10 167-176

[3] **ABOUTABL E.A. ; EL-AZZOUNY A.A. ; HAMMERSCHMIDT F.J.**
Aroma volatiles of *Nigella* sativa L. seeds.
Progress in Essential Oil Research, Proceedings of the International Symposium on Essential Oils,16th 1986, meeting date 1985 : 49-55

[4] **AGEL M.B.**
The relaxing effect of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on vascular smooth muscle. Dirasat-University of Jordan, Series B: Pure and Applied Sciences 1992 : 19B 91-100

[5] **AGRAWALA I.P. ; ACHAR M.V. ; TAMANKAR B.P.**
Galactogogue action of *Nigella sativa*.
Indian J.Med.Sci. 1971 : 25 535-537

[6] **AKHTAR A.H. ; AHMAD K.D. ; GILANI S.N. ; NAZIR A.**
Antiulcer effects of aqueous extracts of *Nigella sativa* and *Pongamia pinnata* in rats.
Fitoterapia 1996 : 38 195-199

[7] **AKHTAR M.S. ; ASLAM M.**
Anticestodal principles of *Nigella sativa* Linn. (Kalonji) seeds.
Pak.J.Pharmacol. 1997 : 14 7-14

[8] **AKHTAR M.S. ; RIFFAT S.**
Field trial of *Saussurea lappa* roots against nematodes and *Nigella sativa* seeds against cestodes in children.
J.Pak.Med.Assoc. 1991 : 41 185-187

[9] **AL-GHAMDI M.S.**
The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*.
J.Ethnopharmacol. 2001 : 76 45-48

[10] **AL-GHARABLY N.M. ; BADARY O.A. ; NAGI M.N. ; AL-SHABANAH O.A. ; AL-SAWAF H.A. ; AL-RIKABI A.C. ; AL-BEKAIRI A.M.**
Protectice effect of thymoquinone against carbone tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice.
Res.Commun.Pharmacol.Toxicol. 1997 : 2 41-50

[11] **ALI B.H.**
The effect of *Nigella sativa* oil on gentamicin nephrotoxicity in rats.
Am.J.Chin.Med. 2004 : 32 49-55

[12] **ALI B.H. ; BLUNDEN G.**
Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa.*
Phytother.Res. 2003 : 17 299-305

[13] **AL-JABRE S. ; AL-AKLOBY O.M. ; AL-QURASHI A.R. ; AKHTAR N. ; AL-DOSSARY A. ; RANDHAWA M.A.**
Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, inhibited *Aspergillus niger.*
Pak.J.Med.Res. 2003 : 42

[14] **AL-JASSIR S.M.**
Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia.
Food Chemistry 1992 : 45 239-42

[15] **AL-JISHI S.A. ; ABUO HOZAIFA B.**
Effect of *Nigella sativa* on blood hemostatic function in rats.
J.Ethnopharmacol. 2003 : 85 7-14

[16] **AL-MAJED A.A. ; DABA M.H. ; ASIRI Y.A. ; AL-SHABANAH O.A. ; MOSTAFA A.A. ; EL-KASHEF H.A.**
Thymoquinone-induced relaxation of guinea pig isolated trachea.
Res.Commun.Mol.Pathol.Pharmacol. 2001 : 110 333-345

[17] **AL-NAGGAR T.B. ; GOMEZ-SERRANILLOS M.P. ; CARRETERO M.E. ; VILLAR A.M.**
Neuropharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts.
J.Ethnopharmacol. 2003 : 88 63-68

[18] **AL-OKBI S.Y. ; AMMAR N.M. ; EL-KADER M.M.A.**
Studies of some biochimical, nutritional and anti-inflammatory effects of *Nigella sativa.*
Egypt.J. Pharm.Sci. 1998 : 38 451-469

[19] **AL-SHABANAH O.A. ; BADARY O.A. ; NAGI M.N. ; AL-GHARABLY N.M. ; AL-RIKABI A.C. ; AL-BEKAIRI A.M.**
Thymoquinone protects doxorubicin-induced cardiotoxicity without compromising its antitumor activity.
J.Exp.Clin.Cancer Res. 1998 : 17 193-198

[20] **ANSARI A.A. ; HASSAN S. ; KENNE L. ; ATTA-UR-RAHMAN ; WEHLER T.**
Structural studies on a saponin isolated from *Nigella sativa.*
Phytochemistry 1988 : 27 3977-9

[21] **AQEL M.**
The calcium antagonistic effect of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds.
Dirasat-University of Jordan, Series B: Pure and Applied Sciences 1992 : 19B 119-133

[22] **AQEL M. ; SHAHEEN R.**
Effects of the volatile oil of *Nigella sativa* on the uterine smooth muscle of rats and guinea pigs.
J.Ethnopharmacol. 1996 : 52 23-26

[23] **ATTA M.B. ; IMAIZUMI K.**
Antioxidant activity of *Nigella* (*Nigella sativa*) seeds extracts.
J.Jpn.Oil Chem.Soc. 1998 : 47 475-480

[24] **ATTA-UR-RAHMAN ; SOHAIL M. ; CUN-HENG H. ; CLARDY J.**
Isolation and structure determination of nigellicine, a novel alkaloid from the seeds of *Nigella sativa.*
Tetrahedron Lett. 1985 : 26 2759-62

[25] **ATTA-UR-RAHMAN ; SOHAIL M. ; KHURSHID Z**.
Nigellimine : a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa.*
Journal of Natural Products 1992 : 55 676-8

[26] **ATTA-UR-RAHMAN ; SOHAIL M. ; SULTAN A. ; CHAUDHARY I. ; HABIB-UR-REHMAN.**
Nigellimine N-oxyde, a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa.*
Heterocycles 1985 : 23 953-5

[27] **ATTA-UR-RAHMAN ; SOHAIL M.S. ; SADIQ H. ; CHOUDARY M.I. ; CHAO-ZHOU N. ; CLARDY J.**
Nigellidine – a new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa.*
Tetrahedron Lett. 1995 : 36 1993-6

[28] **BABAYAN V.K. ; KOOTTUNGAL D. ; HALABY G.A.**
Proximate analysis, fatty acid and amino acid composition of *Nigella sativa* L. seeds.
J.Food Sci. 1978 : 43 1314-1315,1319

[29] **BADARY O.A.**
Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice.
J.Ethnopharmacol. 1999 : 67 135-142

[30] **BADARY O.A. ; ABDEL-NAIM A.B. ; ABDEL-WAHAB M.H. ; HAMADA F.M.A.**
The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats.
Toxicology 2000 : 143 219-226

[31] **BADARY O.A. ; AL-SHABANAH O.A. ; NAGI M.N. ; AL-RIKABI A.C. ; ELMAZAR M.M.**
Inhibition of benzo(a) pyrene-induced forestomach carcinogenesis in mice by thymoquinone.
Eur.J.Cancer Prev. 1999 : 8 435-440

[32] **BADARY O.A. ; AL-SHABANNAH O.A. ; NAGI M.N. ; AL-BEKAIRI A.M. ; ELMAZAR M.M.A.**
Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice.
Drug Dev.Res. 1998 : 44 56-61

[33] **BADARY O.A. ; EL-DIN A.M.G.**
Inhibitory effects of thymoquinone against 20-methylcholanthrene-induced fibrosarcoma tumorigenesis.
Cancer Detect.Prev. 2001 : 25 362-368

[34] **BADARY O.A. ; NAGI M.N. ; AL-SHABANAH O.A. ; AL-SAWAF H.A. ; AL- SOHAIBANI M.O. ; AL-BEKAIRI A.M.**
Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity.
Can.J.Physiol.Pharmacol. 1997 : 75 1356-1361

[35] **BADARY O.A. ; TAHA R.A. , EL-DIN A.M.G. ; ABDEL-WAHAB M.H.**
Thymoquinone is a potent superoxyde anion scavenger.
Drug Chem.Toxicol. 2003 : 26 87-98

[36] **BAMOSA A.O. ; ALI B.A. ; AL-HAWSAWI Z.A**.
The effect of thymoquinone on blood lipids in rats.
Indian J.Physiol.Pharmacol. 2002 : 46 195-201

[37] **BASHANDY S.A.E.**
Effect of *Nigella sativa* oil on liver and kidney functions of adult and senile rats.
Egypt.J.Pharm. 1996 : 37 1-6

[38] **BASSIM ATTA M.**
Some characteristics of *Nigella* (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile.
Food Chemistry 2003 : 83 63-68

[39] **BELLAKHDAR J.**
La pharmacopée marocaine traditionnelle : médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Paris, 1997

[40] **BENYOUSSEF E.-H. ; ZOUAGH ,N. ; BELABBES R. ; BESSIERE J.-M.**
Botanical study of algerian *Nigella* seeds and analysis of their essential oil.
Rivista italiana EPPOS 2001 : 31 15-19

[41] **BLAMEY M. ; GREY-WILSON C.**
Toutes les fleurs de Méditerrannée.
Delachaux et Niestlé, Paris, 2000

[42] **BONNIER G. ; DOUIN R.**
La grande flore en couleur.
tome 3 ; Belin, Paris, 1993.

[43] **BOSKABADY M.H. ; KIANI S. ; JANDAGHI P. ; ZIAEI T. ; ZAREI A.**
Antitussive effect of *Nigella sativa* in guinea pigs.
Pak.J.Med.Sci. 2004 : 20 224-228

[44] **BOSKABADY M.H. ; SHAHABI M.**
Bronchodilatory and anticholinergic effects of *Nigella sativa* on isolated guinea pig tracheal chains.
Irn.J.Med.Sci. 1997 : 22 133

[45] **BOSKABADY M.H. ; SHARAVI N.**
Inhibitory effect of *Nigella sativa* on histamine (H_1) receptors of isolated guinea pig tracheal chains.
Eur.Respir.J. 2000 : 16 461s

[46] **BOSKABADY M.H. ; SHIRMOHAMMADI B.**
Effect of *Nigella sativa* on isolated guinea pig trachea.
Arch.Iran.Med. 2002 : 5 103-107

[47] **BOSKABADY M.H. ; SHIRMOHAMMADI B. ; JANDAGHI P. ; KIANI S.**
Possible mechanism(s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from *Nigella sativa* on tracheal chains of guinea pig.
BMC Pharmacol. 2004 : 4 3

[48] **BOULLARD B.**
Dictionnaire de botanique
Ellipses, Paris, 1988

[49] **BOURREL C. ; VILAREM C. ; PERINEAU F.**
Aromatic compounds of *Nigella sativa* L. grains ; evaluation of antibacterial and antifungal properties.
Rivista Italiana EPPOS 1993 : 4 21-27

[50] **BRUNETON J.**
Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.
Tec&Doc – Lavoisier, Paris, 1999

[51] **BURITS M. ; BUCAR F.**
Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil.
Phytother.Res. 2000 : 14 323-328

[52] **BURTE J.N.**
Le bon jardinier, encyclopédie horticole
Volume 3, La maison rustique, Paris, 1992

[53] **CHAKRAVARTY N.**
Inhibition of histamine release from mast cell by nigellone
Ann. Allergy 1993 : 70 237-242

[54] **CHEERS G.**
Botanica, encyclopédie de botanique et d'horticulture.
Könemann, Königswinter, Allemagne, 1997.

[55] **CHOWDHURY A.K.A. ; ISLAM Md.A. ; RASHID Md.A. ; FERDOUS A.J.**
Therapeutic potential of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds in monkey model with experimental shigellosis.
Phytother.Res. 1998 : 12 361-363

[56] **COSTE L'Abbé H.**
Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes.
Tome 1, Librairies Scientifiques et Techniques Albert Blanchard, Paris, 1985

[57] **CRETE P.**
Précis de botanique.
Tome 2, Masson, Paris, 1965

[58] **D'ANTUONO L.F. ; MORETTI A. ; LOVATO A.F.S.**
Seeds yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L.
Industrial Crops and Products 2002 : 15 59-69

[59] **DABA M.H. ; ABDEL-RAHMAN M.S.**
Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes.
Toxicol.Lett 1998 : 95 23-29

[60] **DAWIDAR A.M. ; EZMIRLY S.T. ; ABDEL-MOGIB M. ; HASHEM N. ; KASEM T.**
New p-hydroxyacetophenone from *Nigella sativa*.
Journal of Saudi Chemical Society 2001 : 5 189-192

[61] **DEYSSON G.**
Organisation et classification des plantes vasculaires.
Tome 2 : Partie systématique, Sedes, Paris, 1979

[62] **DIEUSAERT P.**
Guide pratique des analyses médicales.
3éme édition Maloine, Paris, 2002

[63] **EL-ABHAR H.S. ; ABDALLAH D.M. ; SALEH S.**
Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats.
J.Ethnopharmacol. 2003 : 84 251-258

[64] **EL-DAKHAKHNY M. ; BARAKAT M. ; EL-HALIM M.A. ; ALY S.M.**
Effects of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats.
J.Ethnopharmacol. 2000 : 72 299-304

[65] **EL-DAKHAKHNY M. ; MADY M. ; LEMBERT N. ; AMMON H.P.T.**
The hypoglycemic effect of *Nigella sativa* oil is mediated by extrapancreatic actions.
Planta Med. 2002 : 68 465-466

[66] **EL-DAKHAKHNY M. ; MADY N.I. ; HALIM M.A.**
Nigella sativa L. oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats.
Arzneimittel-Forschung 2000 : 50 832-836

[67] **EL-DAKHAKHNY M. ; MADY N.J. ; LEMBERT N. ; AMMON H.P.T.**
Nigella sativa oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats.
J.Ethnopharmacol. 2002 : 81 161-164

[68] **EL-HADIYAH T.M. ; RAZA M. ; MOHAMMED O.Y. ; ABDALLAH A.A.**
Evaluation of *Nigella sativa* seed constituents for their *in vivo* toxicity in mice.
Natural Product Science 2003 : 9 22-27

[69] **EL-KAMALI H.H. ; AHMED A.H. ; MOHAMMED A.S. ; YAHIA A.A.M. ; EL-TAYEB I.H. ; ALI A.A.**
Antibacterial properties of essential oils from *Nigella sativa* seeds, *Cymbopogon citratus* leaves and *Pulicaria undulate* aerial parts.
Fitoterapia 1998 : 69 77-78

[70] **EL-MAHMOUDY A. ; MATSUYAMA A.H. ; BORGAN M.A. ; SHIMIZU Y. ; EL-SAYED M.G. ; MINAMOTO N. ; TAKEWAKI T.**
Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages.
Int.Immunopharmacol. 2002 : 2 1603-1611

[71] **EL-SALEH S.C. ; AL-SAGAIR O.A. ; AL-KALAF M.I.**
Thymoquinone and *Nigella sativa* oil protection against methionine-induced hyperhomocysteinemia in rats.
Int.J.Cardiol. 2004 : 93 19-23

[72] **ELSAYED I.S. ; SHOJI F.**
Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds against rat colon carcinogenesis.
Nutr.Cancer 2003 : 45 195-202

[73] **EL-TAHIR K.E.H. ; AL-AJMI M.F. ; AL-BEKAIRI A.M.**
Some cardiovascular effects of the dethymoquinonated *Nigella sativa* volatile oil and its major components α-pinene and p-cymene in rats.
Saudi Pharm.J. 2003 : 11 104-110

[74] **EL-TAHIR K.E.H. ; AL-TAHIR A.Y. ; AGEEL A.M.**
Pharmacological studies on sesame and *Nigella sativa* fixed oil : effects on the sensitivities of the adrenoreceptors, baroreceptors, platelets and the uterus of rat.
Saudi Pharm.J. 1999 : 7 205-215

[75] **EL-TAHIR K.E.H. ; ASHOUR M.M.S. ; AL-HARBI M.M.**
The cardiovascular actions of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in rats : elucidation of the mechanism of action.
Gen.Pharmacol. 1993 : 24 1123-1131

[76] **EL-TAHIR K.E.H. ; ASHOUR M.M.S. ; AL-HARBI M.M.**
The respiratory effects of the volatile oil of *Nigella sativa* in guinea pigs : elucidation of the mechanism(s) of action.
Gen.Pharmacol. 1993 : 24 1115-1122

[77] **ENAMOTO S. ; ASANO R. ; IWAHORI Y. ; NARUI T. ; OKADA Y. ; SINGAB A.N.B. ; OKUYAMA T.**
Hematological studies on black cumin oil from the seeds of *Nigella sativa* L.
Bio.Pharm.Bull. 2001 : 24 307-310

[78] **FARAH I.O. ; BEGUM R.A.**
Effect of *Nigella sativa* (*N. sativa* L.) and oxidative stress on the survival pattern of MCF-7 breast cancer cells.
Biomed.Sci.Instrum. 2003 : 39 359-364

[79] **FARARH K.M. ; ATOJI Y. ; SHIMIZU Y. ; SHIINAT T. ; NIKAMI H. ; TAKEWAKI T.**
Mechanism of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa* L. oil in streptozotocin-induced diabetic hamster.
Res.Vet.Sci. 2004 : 77 123-129

[80] **FARARH K.M. ; ATOJI Y. ; SHIMIZU Y. ; TAKEWAKI T.**
Insulinotropic properties of *Nigella sativa* oil in streptozotocin plus nicotinamide diabetic hamster.
Res.Vet.Sci. 2002 : 73 279-282

[81] **FARRAG M.A. ; MOHAMED A.S. ; BOUTRUS M.E.-K. ; EL-ALFY Y.**
The possible protective effect of *Nigella sativa* crude seeds on gentamicin induced nephrotoxicity in unilateral nephroectomized rats.
Zagazig Journal of Pharmaceutical Sciences 1997 : 6 44-53

[82] **FERDOUS A.J. ; ISLAM S.N. ; AHSAN M. ; HASAN C.M.**
In vitro antibacterial activity of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds against multiple drug-resistant isolates of *Shigella ssp.* and isolates of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli.*
Phytother.Res. 1992 : 6 137-140

[83] **FERENCIKOVA R. ; CERVINKOVA.Z. ; DRAHOTA Z.**
Hepatotoxic effect of D-galactosamine and protective role of lipid emulsion.
Physiol.Res. 2003 : 52 73-78

[84] **FOURNIER P.**
Les quatre flores de France.
Dunod, Paris, 2001.

[85] **GALI-MUHTASIB H.U. ; ABOU KHEIR L.A. ; DARWICHE N. ; CROOKS P.A.**
Molecular pathway for thymoquinone-induced cell-arrest and apoptosis in neoplasic keratinocytes.
Anticancer Drugs 2004 : 15 389-399

[86] **GARNIER G. ; BEZANGER-BEAUQUESNE L. ; DEBRAUX G.**
Ressources médicinales de la flore française.
Tome 1, Vigots Frères, Paris, 1961

[87] **GAUSSEN H. ; LEROY J.F. ; OZENDA.**
Précis de botanique. Tome 2 : Les végétaux supérieurs.
2è édition Masson, Paris, 1982

[88] **GHOSHEH O.A. ; HOUDI A.A. ; CROOKS P.A.**
High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella satival L.*).
J.Pharm.Biomed.Anal. 1999 : 19 757-762

[89] **GILANI A.H. ; AZIZ N. ; KHURRAM I.M. ; CHAUDHARY K.S. ; IQBAL,A.**
Bronchodilatator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses.
J. Pak. Med. Assoc. 2001 : 51 115-120

[90] **GUIGNARD J.L.**
Abrégés de botanique systématique moléculaire.
Masson, Paris, 2001

[91] **GUINOCHET M. ; DE VILMORIN R.**
Flore de France.
Tome 3, Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1978

[92] **HAJHASHEMI V. ; GHANNADI A. ; JAFARABADI H.**
Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and anti-inflammatory drug.
Phytother.Res. 2004 : 18 195-199

[93] **HANAFY M.S. ; HATEM M.E.**
Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin).
J.Ethnoparmacol. 1991 : 34 275-278

[94] **HAQ A. ; ABDULLATIF M. ; LOBO P. ; KHABAR K.S.A. ; SHETH K.V. ; AL-SEDAIRY S.T.**
Nigella sativa : effect on human lymphocytes and polymorphonuclear leukocytes phagocitic activity.
Immunopharmacology 1995 : 30 147-155

[95] **HAQ A. ; LOBO P. ; AL-TUFAIL M. ; RAMA N. ; AL-SEDAIRY S.T.**
Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography.
Int.J.Immunopharmacol. 1995 : 21 283-295

[96] **HARBONE J.P.**
Phytochemical methods, a guide to modern techniques of plant analysis.
Chapman & Hall, Londres, 1998

[97] **HASANZADEH M.K. ; RAMAZANIE M. ; GOLMOHAMMADZADEH S**.
Volatile constituents of *Nigella sativa* L. seeds.
Oriental Journal of Chemistry 2000 : 16 461-462

[98] **HASSAN M.M. ; MOHAMED M.E.**
Evaluation of the hepatoprotective effect of some drugs in paracetamol induced-liver cell toxicity in the rat.
Alex.J.Pharm.Sci. 1998 : 12 103-106

[99] **HOSSEINZADEH H. ; PARVARDEH S.**
Anticonvulsivant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice.
Phytomedicine 2004 : 11 56-64

[100] **HOUGHTON P.J. ; ZARKA R. ; DE LAS HERAS B. ; HOULT J.R.S.**
Fixed oil of *Nigella sativa* and derivated thymoquinone inhibit eicosanoïd generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation.
Planta Med. 1995 : 61 33-36

[101] **HUSSEIN G. ; MIYASHIRO H. ; NAKAMURAN N. ; HATTORI M. ; KAKIUCHI N. ; SHIMOTOHNO K.**
Inhibitory effects of Sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus (HCV) protease.
Phytother.Res. 2000 : 14 510-516

[102] **HUSSEIN M.M.A. ; EL-FEKI M.A. ; HATAI K. ; YAMAMOTO A.**
Inhibitory effects of thymoquinone from *Nigella sativa* on pathogenic *Saprolegnia in fish.*
Biocontrol Science 2002 : 7 31-35

[103] **IBRAHEIM Z.Z.**
Effect of *Nigella sativa* seeds and total oil on some blood parameters in female volunteers.
Saudi Pharm.J. 2002 : 10 54-59

[104] **IBRAHEIM Z.Z. ; ALY A.M. ; NADDAF A.R.**
The effet of oral administration of *Nigella sativa* L. seeds and oil on some blood parameters.
Bull.Pharm.Sci. 2001 : 24 29-39

[105] **IMBESI. A.**
Index planetarium.
Salla, Messine, 1964

[106] **INTERNET**

[106a] http://www.khojagroup.com/black_cumin.html

[106b] http://www.planetherbs.com/articles/home.html#herbs

[106c] http://www.whitelotusaromatics.com/newsletters/34nigella.html

[106d] http://www-ang.kfunigraz.ac.at/~katzer/engl/generic_frame.html?Nige_sat.html

[106e] http://www.f-lohmueller.de/botanic/Ranunculaceae/Nigella/Nigella01.html

[106f] http://www.medsafe.govt.nz/downloads/aconite%20report.doc

[106g] http://www.asanltr.com/newsletter/01-4/articles/Abrin&RicinRev.htm

[107] **ISLAM S.K.N. ; BEGUM P. ; AHSAN T. ; HUQUE S. ; AHSAN M**.
Immunosuppressive and cytotoxic properties of *Nigella sativa.*
Phytother.Res. 2004 : 18 395-398

[108] **JOSHI B.S. ; SINGH K.L. ; ROY R.**
Complete assignments of ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of the pentacyclic triterpenes hederagenin from *Nigella sativa* Linn.
Mag. Res. Chem. 1999 : 37 295-298

[109] **JOSHI B.S. ; SINGH K.L. ; ROY R.**
Structure of a new isobenzofuranone derivates from *Nigella sativa* Linn.
Mag.Res.Chem. 2001: 39 771-772

[110] **JUDD ; CAMPBELL ; KELLOGG ; STEVENS.**
Botanique systématique, une perspective phylogénétique.
De Boeck Universités, Paris, 2002

[111] **KALUS U. ; PRUSS A. ; BYSTRON J. ; JURECKA M. ; SMEKALOVA A. ; LICHIUS J.J. KIESEWETTER H.**
Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases.
Phytother.Res. 2003 : 17 1209-1214

[112] **KANTER M. ; COSKUN O. ; KORKMAZ A. ; OTER S.**
Effects of *Nigella sativa* on oxidative stress and β-cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats.
Anat.Rec. 2004 : 279A 685-691

[113] **KANTER M. ; MERAL I. ; YENER Z. ; OZBEK H. ; DEMIR H.**
Partial regeneration/proliferation of the β-cells in the islets of Langerhans by *Nigella sativa* L. in streptozotocin-induced diabetic rats.
Tohoku J.Exp.Med. 2003 : 201 213-219

[114] **KHAN A.M.**
Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* L.
Inflammopharmacology 1999 : 7 15-35

[115] **KHAN M.A.U. ; ASHFAQ M.K. ; ZUBERI H.S. ; MAHMOOD M.S. ; GILANI A.H.**
The *in vivo* antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds.
Phytother.Res. 2003 : 17 183-186

[116] **KHANNA T. ; ZAIDI F.A. ; DANDIYA P.C.**
CNS and analgesic studies on *Nigella sativa.*
Fitoterapia 1993 : 64 407-410

[117] **KRESHRI G. ; SINGH M.M. ; LAKSHMI V. ; KAMBOJ V.P.**
Post-coïtal contraceptive efficacity of the seeds of *Nigella sativa* in rats.
Indian J.Physiol.Pharmacol. 1995 : 39 59-62

[118] **KUMARA S.S.M. ; HUAT B.T.K.**
Extraction, isolation and characterization of antitumor principle, α-hederin, from the seeds of *Nigella sativa.*
Planta Med. 2001 : 67 29-32

[119] **KUMARA S.S.M. ; HUAT B.T.K.**
Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds.
J. Ethnopharmacol. 2000 : 70 1-7

[120] **LE PHUONG M. ; BENHADDOU-ANDALOUSSI A. ; ELIMADI A. ; SETTAF A. ; CHERRAH Y. ; HADDAD P.S.**
The petroleum ether extract of *Nigella sativa* exerts lipid-lowering and insulin-sensitizing actions in the rat.
J.Ethnopharmacol. 2004 : 94 251-259

[121] **MAHFOUZ M. ; DAKAKNY M. ; GEMEI A. ; MOUSSA H.**
Choleretic action of *Nigella sativa* seeds oil.
Egypt.Parm.Bull. 1964 (vol. date 1962) 44 225-229

[122] **MAHGOUB A.A.**
Thymoquinone protects against experimental colitis in rats.
Toxicol.Lett. 2003 : 143 133-143

[123] **MAHMOOD M.S. ; GILANI A.H. ; KHWAJA A. ; RASHID A. ; ASHFAQ M.K.**
The *in vitro* effect of aqueous extract of *Nigella sativa* seeds on nitric oxide production.
Phytother.Res. 2003 : 17 921-924

[124] **MAHMOUD M.R. ; EL-ABHAR H.S. ; SALEH S.**
The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice.
J.Ethnopharmacol. 2002 : 79 1-11

[125] **MANSOUR M.A.**
Protective effects of thymoquinone and desferrioxamine against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in mice.
Life Sci. 2000 : 66 2583- 2591

[126] **MANSOUR M.A. ; GINAWI O.T. ; EL-HADIYAH T. ; EL-KHATIB A.S. ; AL-SHABANA O.A. ; AL-SAWAF H.A.**
Effects of volatile oil constituents of *Nigella sativa* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice : evidence for antioxidant effet of thymoquinone.
Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol. 2001 : 110 239-251

[127] **MARIEE A.D. ; EL-MAHDY M.A.**
Protective effect of thymoquinone against diet-induced hyperlipidemia in rats.
Egypt.J.Biomed.Sci. 2003 : 11 204-217

[128] **MENOUNOS P. ; STAPHYLAKIS K. ; GEGIOU D.**
The sterols of *Nigella sativa* seed oil.
Phytochemistry 1986 : 25 761-3

[129] **MERAL I. ; DONMEZ N. ; BAYDAS B. ; BELGE F. ; KANTER M.**
Effect of *Nigella sativa* L. on heart rate and some haematological values of alloxane-induced diabetic rabbits.
Scand.J.Lab.Anim.Sci. 2004 : 31 49-53

[130] **MERAL I. ; YENER Z. ; KAHRAMAN T. ; MERT N.**
Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, antioxidant defense system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits.
J.Vet.Med.A.Physiol.Pathol.Clin.Med. 2001 : 48 593-599

[131] **MERFORT I. ; WRAY V. ; BARAKAT H.H. ; HUSSEIN S.A.M. ; NAWWAR M.A.M. ; WILLUHN G.**
Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa.*
Phytochemistry 1997: 46 359-363

[132] **MIGAHID A.M.**
Flora of Saudi Arabia.
Volume 1, 3ᵉ édition King Saud University Press, Riyadh, 1988

[133] **MORIKAWA T. ; FENGMING X. ; KIYOFUMI N. ; HISASHI M. ; YOSHIKAWA M.**
Nigellamines A3, A4, A5 and C, new dolabellane-type diterpene alkaloids with lipid metabolism promoting activities from the egyptian medicinal food black cumin.
Chem.Pharm.Bull. 2004 : 52 494-7

[134] **MORIKAWA T. ; FENGMING X. ; YOUSUKE K. ; HISASHI M. ; KIYOFUMI N. ; YOSHIKAWA M.**
Novel dolabellane-type diterpene alkaloids with lipid metabolism promoting activities from the seeds of *Nigella sativa.*
Org.Lett. 2004 : 6 869-872

[135] **MORSI N.M.**
Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria.
Acta Microbio.Pol. 2000 : 49 63-74

[136] **MUTABAGANI A. ; EL-MAHDY S.A.M.**
Study of the anti-inflammatory activity of *Nigella sativa* L. and thymoquinone in rats.
Saudi Pharm.J. 1997 : 5 110-113

[137] **NAGI M.N. ; ALAM K. ; BADARY O.A. ; AL-SHABANAH O.A. ; AL-SAWAF H.A. ; AL-BEKAIRI A.M.**
Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism. Biochem.Mol.Bio.Int. 1999 : 47 153-159

[138] **NAGI M.N. ; MANSOUR M.A.**
Protective effects of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats : a possible mechanism of protection.
Pharmacol.Res. 2000 : 41 283-289

[139] **NAIR,S.C. ; SALOMI M.J. ; PANIKKAR K.R**.
Modulatory effect of *Croccus sativus* and *Nigella sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in mice.
J.Ethnopharmacol. 1991 : 31 75-83

[140] **NERGIZ C. ; ÜNAL K.**
Effect of the method of extraction on the total polyphenol and 1,2-diphenol content and stability of virgin olive oil.
J. Sci. Food Agric. 1991 : 56 79-84

[141] **NERGIZ C. ; OTLES S.**
Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds.
Food Chemistry 1993 : 48 259-61

[142] **NICKAVAR B. ; MOJAB F. ; JAVIDNIA K. ; AMOLI A.R.M.**
Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran.
J. Biosci. 2003 : 58 629-631

[143] **ÖZBEK H. ; ÖZTÜRK M. ; ÖZTÜRK A. ; CEYLAN E. ; YENER Z.**
Determination of lethal doses of volatile and fixed oils of several plants.
Eastern Journal of Medicine 2004 : 9 4-6

[144] **OZENDA P.**
Les végétaux : organisation et diversité biologique.
2èédition Dunod , Paris, 2000

[145] **QUEZEL P. ; SANTA,S.**
Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.
Tome 1, Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1962

[146] **RAMADAN M.F. ; KROH L.W. ; MOERSEL J.-T.**
Radical scavenging activity of black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.), and niger (*Guizotia byssinica* Cass.) crude seed oils and oil fractions.
J.Agric.Food Chem. 2003 : 51 6961-6969

[147] **RAMADAN M.F. ; MORSEL J.T.**
Neutral lipid classes of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil.
Eur. Food Res. Technol. 2002 : 214 202-206

[148] **RAMADAN M.F. ; MORSEL,J.T.**
Characterization of phospholipid composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil.
Nahrung 2002 : 46 240-244

[149] **RAMADAN M.F. ; MORSEL J.T.**
Analysis of glycolipids from black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.), and niger (*Guizotia byssinica* Cass.) oilseeds.
Food Chemistry 2002, volume date 2003 : 80 197-204

[150] **RAO T.S.S. ; NIGAM S.S.**
Chemical and antimicrobial examination of the essential oil from the seeds of *Nigella sativa* var. aromatica.
Indian Perfumer 1978 : 22 232-238

[151] **RATHEE P.S. ; MISHRA S.H. ; KAUSHAL R.**
Antimicrobial activity of essential oil, fixed oil and unsaponified matter of *Nigella sativa* L.
Indian J. Pharmac. 1982 : 44 8-10.

[152] **REYLLI A. ; OSTER M.**
Guide des annuelles et vivaces.
Modus Vivendi, Paris, 2003

[153] **SALEM M.L. ; HOSSAIN M.S.**
Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection.
Int.J.Immunopharmacol. 2000 : 22 729-740

[154] **SALOMI N.J. ; NAIR S.C. ; JAYAWARDHANAN K.K. ; VARGHESE C.D. ; PANIKKAR K.R.**
Antitumor principles from *Nigella sativa* seeds.
Cancer Lett. 1992 : 63 41-46

[155] **SALOMI N.J. ; NAIR S.C. ; SATISH C. ; PANIKKAR K.R.**
Inhibitory effects of *Nigella sativa* and saffron (*Croccus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice.
Nutr.Cancer 1991 : 16 67-72

[156] **SHOIEB A.M. ; ELGAYYAR M. ; DUDRICK P.S. ; BELL J.L. ; TITHOF P.K.**
In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone.
Int.J.Oncol. 2003 : 22 107-113

[157] **SINGAB A.B. ; KHALIFA T.I. ; OKUYAMA T. ; FUSHIYA S.**
Saponin and flavonoid glycosides from *Nigella sativa* L.
Al-Azhar Journal of Pharmaceutical Sciences 1999 : 24 1-9

[158] **SLIMANE S.**
Nigella sativa L., *Nigella damascena* L. ; études botaniques, chimique et pharmacologique. Propriétés des huiles essentielles.
Thèse de Docteur en pharmacie 2001 n°25-01-33, Besançon

[159] **SPICHIGER R.E. ; SAVOLAINEN ,V.V. ; FIGEAT M. ; JEANMONOD D.**
Botanique systématique des plantes à fleurs.
2ème édition Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2002

[160] **STEINMAN A. ; SCHÄTZLE M. ; AGATHOS M. ; BREIT R.**
Allergic contact dermatitis from black cumin (*Nigella sativa*) oil after topical use.
Contact Dermatits 1997 : 36 268-269

[161] **TAKRURI H.R.H. ; DAMEH M.A.F.**
Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa* L.).
J.Sci.Food Agric. 1998 : 76 404-410

[162] **TENNEKOON K.H. ; JEEVATHAYAPARAN S. ; KURUKULASOORIYA A.P. ; KARUNANAYAKE E.H.**
Possible hepatotoxicity of *Nigella sativa* seeds and *Dregea volubilis* leaves.
J.Ethnopharmacol. 1991: 31 283-289

[163] **TOPPOZADA H.H. ; MAZLOUM H.A. ; EL-DAKHAKHNY M.**
Antibacterial properties of *Nigella sativa* seeds. Active principle with some clinical applications.
J.Egypt.Med.Assoc. 1965 : 48 187-202

[164] **TURKDOGAN M.K. ; OZBEK H. ; YENER Z. ; TUNCER I. ; UYGAN I. ; CEYLAN E.**
The role of *Urtica dioïca* and *Nigella sativa* in the prevention of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats.
Phytother.Res. 2003 : 17 942-946

[165] **TUTTIN T.G. ; HEYWOOD V.H. ; BURGES N.A. ; VALENTINE D.H. ; WALTERS S.M. ; WEBB D.A.**
Flora europeae.
Volume 1, Cambridge University Press, Cambridge, 1964

[166] **WICHTL M. ; ANTON R.**
Plantes thérapeutiques.
2ème édition, Tec & Doc, Tournai (Belgique), 2003

[167] **WORTHEN D.R. ; GHOSHEH O.A. ; CROOKS P.A.**
The *in vitro* anti-tumor activity of some crude and purified components of black seed, *Nigella sativa* L.
Anticancer Res. 1998 : 18 1527-1532

[168] **ZAOUI A. ; CHERRAH Y. ; ALAOUI K. ; MAHASSINE N. ; AMAROUCH H. ; HASSAR M.**
Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rats.
J.Ethnopharmacol. 2002 : 79 23-26

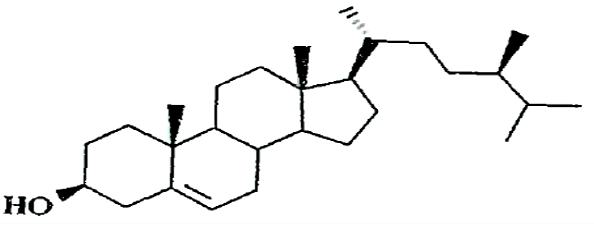
[169] **ZAOUI A. ; CHERRAH Y. ; LACAILLE-DUBOIS M.A. ; SETTAF A. ; AMAROUCH H. ; HASSAR M.**
Diuretic and hypotensive effects of *Nigella sativa* in the spontaneously hypertensive rat.
Thérapie 2000 : 55 379-382

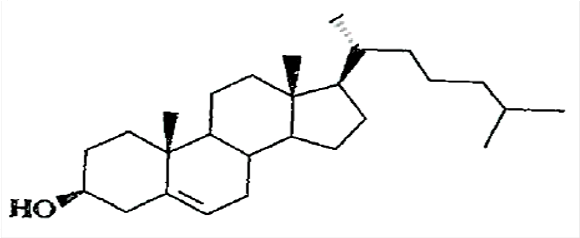
[170] **ZAOUI A. ; CHERRAH Y. ; MAHASSINI N. ; ALAOUI K. ; AMAROUCH H. ; HASSAR M.**
Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil.
Phytomedicine 2002 : 9 69-74

[171] **ZEDLITZ S. ; KAUFMANN R. ; BOEHNCKE W.H.**
Allergic contact dermatitis from black cumin (*Nigella sativa*) oil-containing ointment.
Contact Dermatits 2002 : 46 188

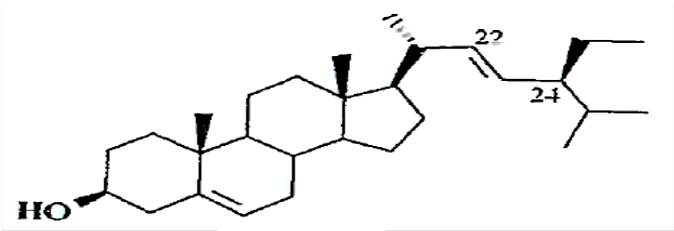
[172] **ZEITOUN M.A.M. ; NEFF W.E.**
Fatty acid, triacylglycérol, tocopherol, sterol, phospholipid composition and oxidative stability of egyptian *Nigella sativa* seed oil.
Oleagineux, Corps Gras, Lipides 1995 : 2 245-8.

Annexe I : Stérols formules

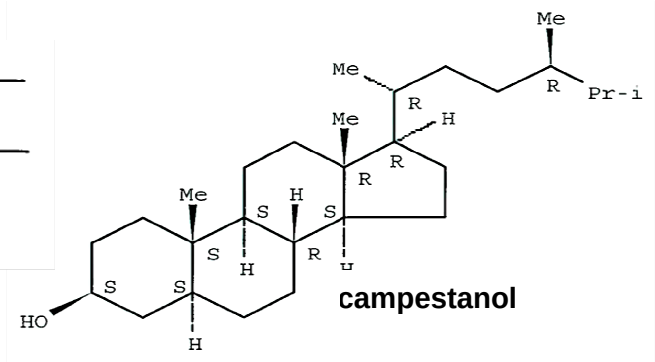




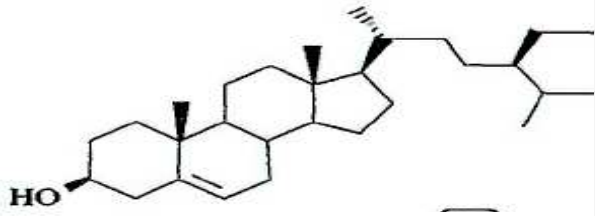
l



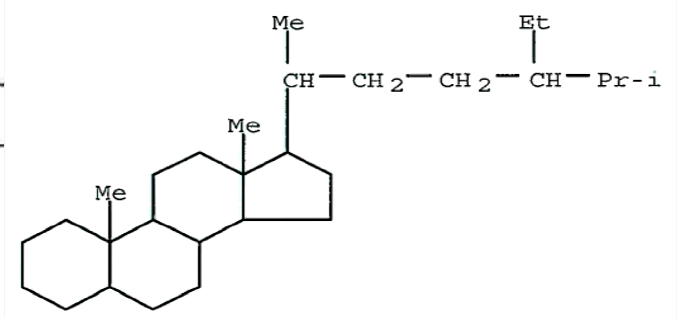
ol



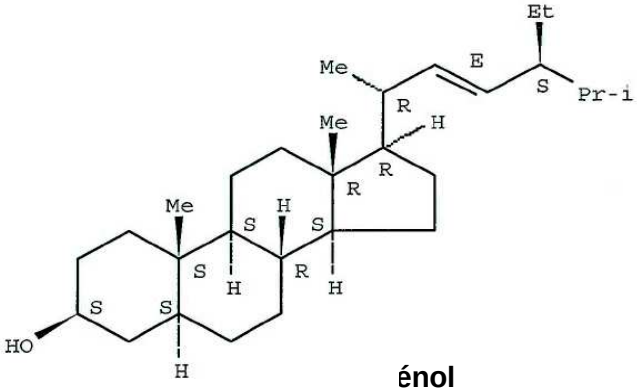
campestanol



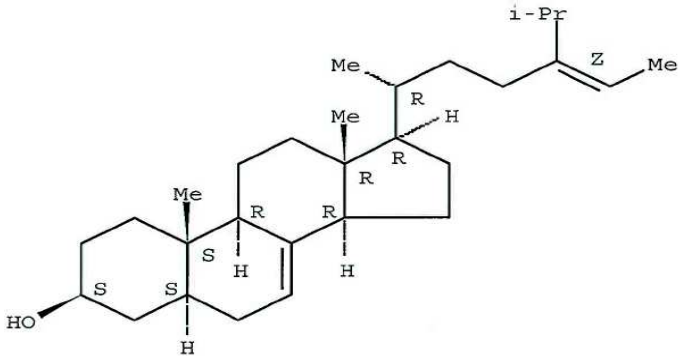
érol



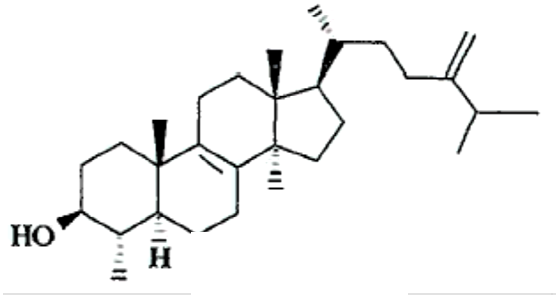
stanol

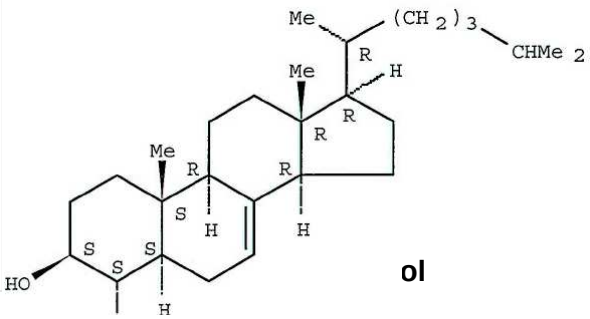


énol

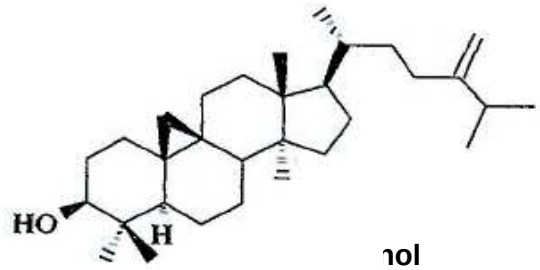


avénastérol

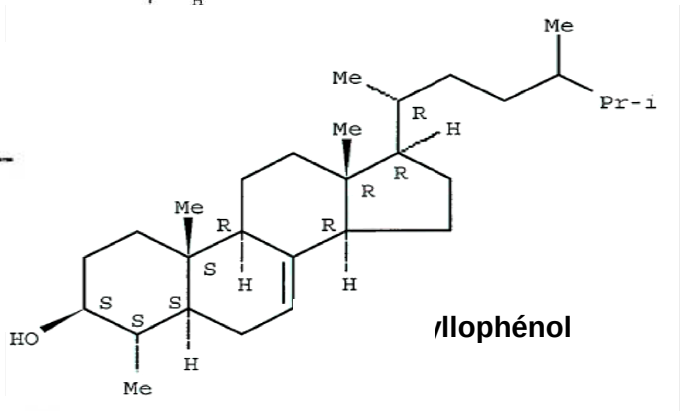




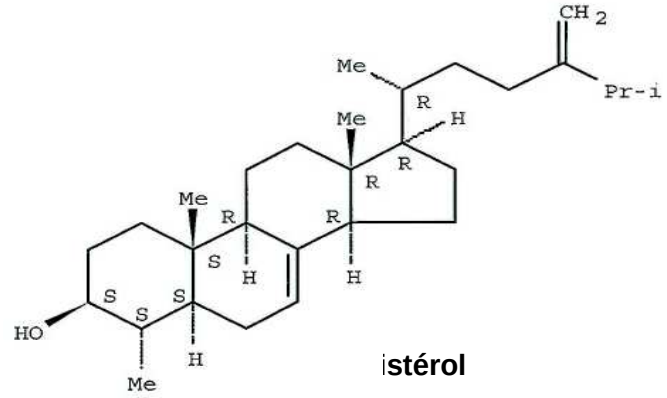
ol



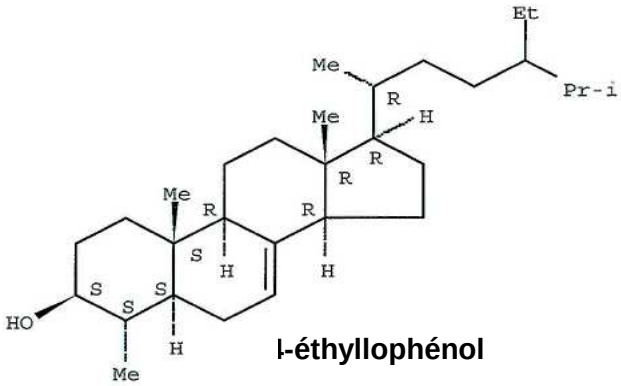
nol



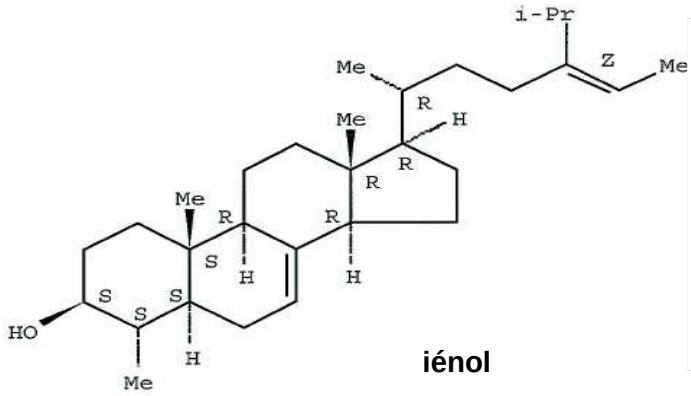
llophénol



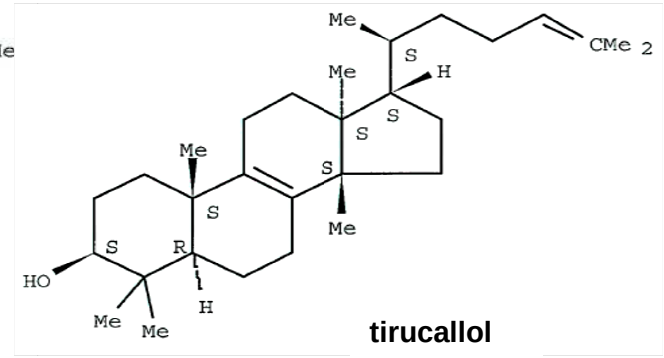
istérol



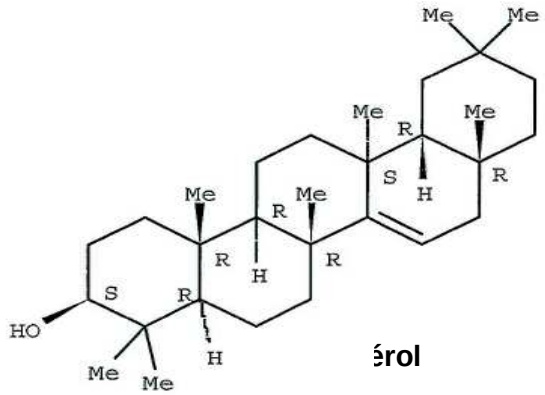
l-éthyllophénol



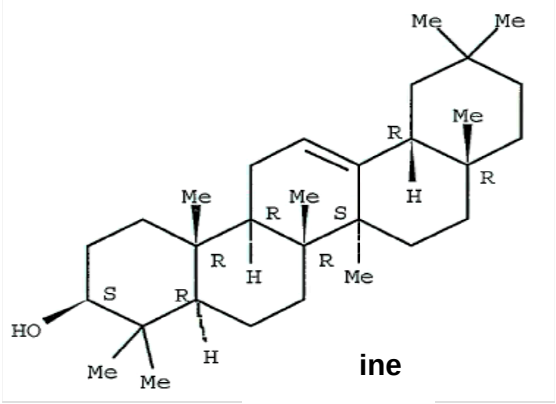
iénol



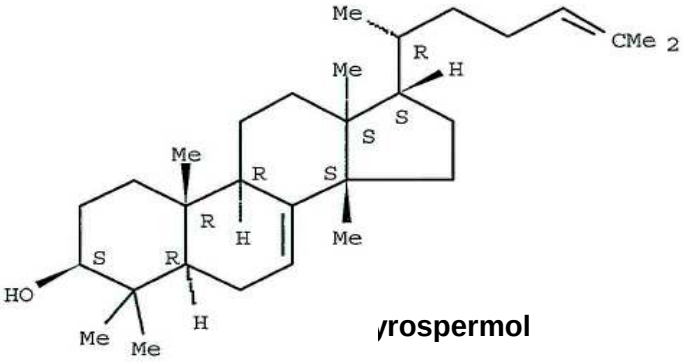
tirucallol



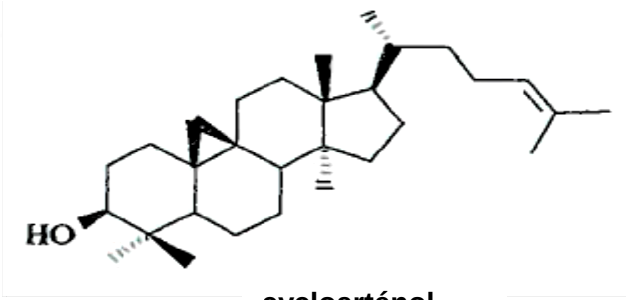
érol



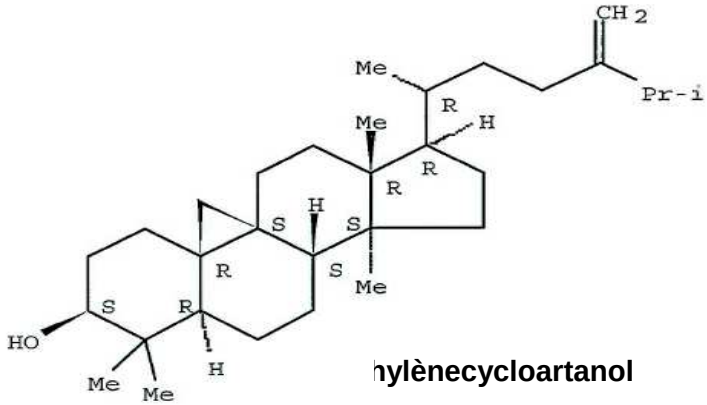
ine



/rospermol



cycloarténol



hylènecycloartanol

Annexe II : Laboratoires

HUILES ET BAUMES- MAXIMILIANO BUSTOS
18 chemin des Fins Sud
74000 ANNECY
tel : 04 50 57 64 83
fax : 04 50 57 28 76
E-mail : max.bustos@wanadoo.fr

L'ARBRE DE VIE
36360 LUCAY-LE-MALE
tel : 02 54 40 47 92
fax : 02 54 40 29 35
site internet : www.arbre-de-vie.com

Dr THEISS-NATURWAREN
11 rue du Chêne
67150 NORDHOUSE
tel : 03 88 59 89 69
fax : 3 88 59 89 60
E-mail : info@naturwaren.fr
Site internet : www.naturwaren.fr

MELVITACOSM SARL
La Fontaine du Cade
07150 LAGORCE
tel : 04 75 37 19 76
fax : 04 75 37 19 72
site internet : www.melvitacosm.com

ATLANTIC NATURE
Z.A. de Kerlouan
56270 PLOEMEUR
tel : 02 97 86 33 79
fax : 02 97 86 71 01

ALTER AFRIQUE
20, avenue de Stalingrad
94260 FRESNES
tel : 01 43 91 35 11
E-mail : contact@alterafrica.com
Site internet : http://secure.oxatis.com

LUDMILLA DE BARDO
56 rue de Dunkerque
75009 PARIS
tel : 01 47 14 02 00
fax : 01 47 14 03 55
E-mail : debardo@wanadoo.fr
Site internet : www.biobardo.fr

NATURE CRAFT PRODUCTS
707 Centerville-Miamisburg Road #114
DAYTON OHIO, 45459
EASTERN STANDARD TIME ZONE
tel: 937-434-5022
E-mail: webmaster@naturecraft.net
Site internet: www.naturecraft.net

Serment des Apothicaires

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les moeurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

THESE SOUTENUE PAR : Fabienne ORSI-LLINARES
TITRE : LA NIGELLE, UNE EPICE D'INTERET MEDICINAL

RESUME :

Les graines de Nigelle (*Nigella sativa* L.) sont employées depuis des siècles au Proche et Moyen-Orient pour leurs valeurs culinaires et médicinales.
La richesse de leur chimie, la présence d'une huile fixe et d'une huile essentielle avec un principe actif majeur, la thymoquinone, leurs confèrent de nombreuses propriétés pharmacologiques et des effets : antioxydant, anti-inflammatoire, antalgique, immuno-stimulant, anti-infectieux, hypoglycémiant, hypotenseur, hypocholestérolémiant, anti-tumoral et cytotoxique.
Les quelques essais cliniques montrent une action antiparasitaire, anti-allergique, hypoglycémiante et hypocholestérolémiante.
Du fait de la faible toxicité des graines et de l'huile et de leurs multiples usages traditionnels généralement confirmés par la pharmacologie, nous soulignons l'intérêt de poursuivre les essais cliniques en vue d'élargir les indications de la Nigelle tout en tenant compte de certains effets indésirables et de quelques précautions d'emploi.

MOTS CLES :

Nigelle, *Nigella sativa*, graines, huile, huile essentielle, thymoquinone