



HAL
open science

Approche ethnopharmacologique de *Nigella sativa* : de ses utilisations traditionnelles ancestrales aux études cliniques actuelles de ses principes actifs

Badr-Eddine Abdesselam

► **To cite this version:**

Badr-Eddine Abdesselam. Approche ethnopharmacologique de *Nigella sativa* : de ses utilisations traditionnelles ancestrales aux études cliniques actuelles de ses principes actifs. Sciences pharmaceutiques. 2015. dumas-01346593

HAL Id: dumas-01346593

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01346593>

Submitted on 19 Jul 2016

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.

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 03 décembre 2015

par ABDESSELAM Badr-Eddine

**Approche ethnopharmacologique de *Nigella sativa* : de ses utilisations
traditionnelles ancestrales aux études cliniques actuelles de ses principes
actifs**

JURY

Président : M. FLINIAUX Marc-André

Membres : M. MOLINIE Roland

M. ADEHOSSI Alain

Table des matières

Abréviations.....	5
Introduction	9
I. Généralités.....	11
A. <i>Nigella sativa</i> au cours de l'Histoire	11
1. Ses différents noms	11
2. Ses utilisations	11
B. Aspects botaniques de <i>Nigella sativa</i>	18
1. La systématique de <i>Nigella sativa</i>	18
2. Particularités de la famille des Renonculacées	18
3. Les différentes espèces du genre <i>Nigella</i>	19
4. <i>Nigella sativa</i> L.	20
5. Obtention de l'huile de Nigelle.....	21
II. Composition de l'huile de la graine de <i>N. sativa</i>	23
A. Composition générale de la graine de <i>Nigella sativa</i>	23
B. L'huile végétale (huile fixe).....	23
1. Composition en lipides simples	23
2. Composition en lipides complexes	26
3. Composition en glucides.....	27
4. Composition en protides	27
5. Autres composés.....	27
C. L'huile essentielle (huile volatile).....	28
Sommaire des composés retrouvés dans l'huile de <i>N. sativa</i> : son Totum	30
III. Propriétés physico-chimiques de l'huile de <i>Nigella sativa</i>	33
IV. L'importance des propriétés anti-oxydantes de <i>Nigella sativa</i>	36
A. Le rôle des antioxydants en santé humaine	36
1. Le concept biologique de radical libre ou d'espèce active	36
2. Le concept de stress oxydatif et de dommage moléculaire.....	41
B. <i>Nigella sativa</i> , une plante antioxydante ?.....	42
1. Propriétés antioxydantes reconnues de ses composés.....	42
2. Actions de <i>Nigella sativa</i> sur les facteurs pro-oxydants	44
3. Actions de <i>Nigella sativa</i> sur les enzymes antioxydantes	47
4. Hypothèses sur le mécanisme d'action antioxydant de la thymoquinone	47
V. Propriétés thérapeutiques de <i>Nigella sativa</i>	49
A. Propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques	49
1. Effet anti-inflammatoire de <i>Nigella sativa</i> : actions sur les médiateurs cellulaires	50

2.	Effets antalgiques et antipyrétiques de <i>Nigella sativa</i>	55
3.	Etude clinique : traitement de la pharyngo-amygdalite aiguë	55
4.	Action antirhumatismales	56
B.	Propriétés anti-ostéoporotiques	57
C.	Propriétés anticancéreuses	60
1.	Rôles de <i>Nigella sativa</i> en tant qu'agent anticancéreux	60
2.	Mécanismes de l'action anticancéreuse de la thymoquinone et de l' α -hédérine	60
3.	Les dérivés de la thymoquinone et de l' α -hédérine	80
4.	Résistance à la thymoquinone	85
5.	Associations entre la thymoquinone et des traitements anticancéreux	86
6.	Récapitulatif des cas de cancers sensibles à la thymoquinone et à l' α -hédérine.....	90
7.	Etude préclinique.....	90
D.	Propriétés antiallergiques et actions sur le système respiratoire	91
1.	Propriétés antihistaminiques.....	91
2.	Propriétés antiallergiques de <i>Nigella sativa</i>	91
3.	Actions sur le système respiratoire	94
E.	Propriétés anti-infectieuses	98
1.	Propriétés antivirales	98
2.	Propriétés antibactériennes.....	99
3.	Propriétés antifongiques	100
4.	Propriétés antiparasitaires	101
5.	Action insecticide	105
F.	Propriétés antidiabétiques.....	106
1.	Observations de l'action antidiabétique de <i>N. sativa</i>	106
2.	Mécanismes d'actions antidiabétiques	107
3.	La neuropathie diabétique	110
4.	La néphropathie diabétique	111
5.	Le diabète gestationnel	111
6.	L'insulino-résistance dans la thérapie antirétrovirale hautement active (HAART).....	112
G.	Actions sur le système cardiovasculaire	113
1.	Actions au niveau du profil lipidique.....	113
2.	Actions sur la fréquence cardiaque et la pression sanguine	114
3.	Protection contre l'hyperhomocystéinémie.....	118
4.	Protection contre les effets cardiotoxiques de la ciclosporine.....	119
H.	Actions sur le système nerveux	120

1.	Effets neuroprotecteurs de <i>Nigella sativa</i>	120
2.	Effets antiépileptogènes de <i>Nigella sativa</i>	121
3.	Effets anxiolytiques de <i>Nigella sativa</i>	122
4.	Effets sur la dépendance aux substances opiacées	122
5.	Effets antinocicepteurs de <i>Nigella sativa</i>	122
I.	Actions diverses de <i>Nigella sativa</i>	123
1.	Actions dans les troubles métaboliques : l'obésité.....	123
2.	Actions sur le système reproducteur	123
3.	Actions sur le système digestif	125
4.	Actions hépatiques : protection et stimulation	128
5.	Actions rénales	129
6.	Actions en dermatologie : activité antipsoriasique de <i>N. sativa</i>	130
7.	Action en ophtalmologie : activité anti-cataracte de <i>N. sativa</i>	130
VI.	Pharmacocinétique de <i>N. sativa</i>	131
1.	Distribution de la thymoquinone.....	131
2.	Interaction avec des composés.....	131
3.	Paramètres pharmacocinétiques de la thymoquinone chargée dans des liposomes	132
VII.	Toxicité de <i>Nigella sativa</i>	133
1.	Toxicité des graines et de l'huile de <i>Nigella sativa</i>	133
2.	Toxicité de la thymoquinone	134
3.	Toxicité chez l'homme	135
	Conclusion.....	137
	Bibliographie	138

Abréviations

5-FU : 5-Fluorouracile	CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
5-HETE : Acide 5-hydroxyecosatétraénoïque	CMVM : Cytomégalovirus Murin
5-HIAA : Acide 5-hydroxy-indole-acétique	COX : Cyclo-Oxygénase
6-OHDA : 6-hydroxydopamine	CPK : Créatine PhosphoKinase
α-SMA : <i>α-Smooth Muscle Actin</i>	CSP : Code de la Santé Publique
ABC : <i>Activated B-Cell lymphoma</i>	CXCL : <i>Chemokine (C-X-C motif) Ligand</i>
ABTS : <i>2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i>	CXCR : <i>Chemokine (C-X-C motif) Receptor</i>
ACC : Acétyl Coenzyme A Carboxylase	CYP : cytochrome P
ADN : Acide Désoxyribonucléique	DAS-28 : <i>Disease Activity Score</i>
AGPI : Acide Gras PolyInsaturé	DENA : DiéthylNitrosamine
AIF : <i>Apoptosis-Inducing Factor 1</i>	DHTQ : Dihydrothymoquinone
ALAT : ALanine Amino Transférase	DL₅₀ : Dose Létale médiane
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché	DLQI : <i>Dermatology Life Quality Index</i>
AMPK : 5' Adenosine MonoPhosphate-activated protein Kinase	DMBA : <i>7,12-DiMethylBenz(a)Anthracene</i>
APO A1 : APOlipoprotéine A1	DMH : 1,2-diméthylhydrazine
AR : Récepteur à l'Angiotensine	DPPH : <i>2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl</i>
ARNm : Acide RiboNucléique Messenger	DSM-IV : Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders, 4 ^e edition
ASAT : ASpartate Amino Transférase	DSS : <i>Dextran Sulfate de Sodium</i>
AUC : Aire sous la courbe	ECA : Enzyme de conversion de l'angiotensine
Bax : <i>Bcl-2-associated X protein</i>	ECN : EntéroColite Nécosante
Bcl-2 : <i>B-cell lymphoma 2</i>	ECN : <i>Equivalent Carbon Number</i>
BRCA1 : <i>BReast Cancer 1</i>	EFR : Epreuves Fonctionnelles Respiratoires
BPH-1 : <i>Benign Prostatic Hyperplasia</i>	ENA-78 : <i>Epithelial Neutrophil Activating protein 78</i>
CAT : Catalase	ERK : <i>Extracellular signal-Regulated Kinase</i>
CCR-9 : <i>C-C chemokine Receptor type 9</i>	FAK : <i>Focal Adhesion Kinase</i>
Cdk : <i>Cyclin dependant kinase</i>	FAP : <i>Familial Adenomatous Polyposis</i>
c-FLIP : <i>cellular FLIP</i>	Fas : <i>First apoptosis signal</i>
CI₅₀ : Concentration Inhibitrice médiane	FDA : <i>Food and Drug Administration</i>

FeNTA : *Ferric Nitrite-O-TriAcetate*

FSH : Hormone Folliculo Stimulante

Fsp1 : *Fibroblast specific protein 1*

γ-GT : Gamma Glutamyl-Transpeptidase

G6PDH : Glucose-6-Phosphate DésHydrogénase

GLUT-4 : Glucose transporter type 4

GPx : Glutathion Peroxydase

GR : Glutathion Réductase

GRO-α : *Growth Regulated Oncogène-alpha*

GSH : Glutathion réduit

GSK-3β : *Glycogen Synthase Kinase 3 beta*

GSSG : Glutathion oxydée

GST : Glutathion S-Transférase

HAART : *Highly Active Anti-Retroviral Therapy*

HbA1C : Hémoglobine glyquée

HDL : *High Density Lipoprotein*

HECSI : *Hand Eczema Severity Index*

HeLA : *Human epithelial cervical cancer*

Hep-2 : *Human epidermoid carcinoma strain 2*

HepG2 : *Liver Hepatocellular carcinoma*

HHcy : Hyperhomocystéinémie

HK : Hexokinase

HL-60 : *Human promyelocytic Leukemia cells*

HMG-CoA : 3-Hydroxy-3-MéthylGlutaryl-coenzyme A

HSC : *Hepatic stellate cells*

HT-29 : *Human colorectal adenocarcinoma cell line*

Ig : Immunoglobuline

IGF : *Insulin-like Growth Factor*

IKK : I-κB Kinase

IL : InterLeukine

IMC : Indice de Masse Corporel

INF : Interféron

iNOS : *inductible Nitric Oxide Synthase*

IP : IntraPéritonéal

IRAK : *Interleukin Receptor-Associated Kinase*

IV : Intraveineuse

JAK-2 : Janus Kinase-2

JNK : *c-Jun N-terminal Kinase*

KCl : Chlorure de potassium

LDH : Lactate Déshydrogénase

LDL : Lipoprotéine de basse densité

LH : Hormone Lutéinisante

LKB-1 : *Liver Kinase B-1*

LL/2 : *Lewis Lung carcinoma*

LLA : Leucémie Lymphoblastique Aiguë

L-NAME : *L-NG-NitroArginine Methyl Ester*

LO : Lipo-Oxygénase

LPS : LipoPolySaccharide

LT : Leukotriène

MAPK : *Mitogen-Activated Protein Kinases*

MCA : 20-MéthylCholAnthrène

MDA : MalonDiAldéhyde

MDR : *Multiple Drug Resistance*

MEC : Matrice extracellulaire

MICI : Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin

MMCP-1 : *Mouse Mast Cell Protease-1*

MMP : *Matrix MetalloProteinase*

MNNG/ HOS : *N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine / Human Caucasian OsteoSarcoma*

MPO : Myéloperoxydase

MNU : Méthylnitrosourée

MUC4 : Mucine 4

MyD88 : *Myeloid Differentiation primary response gene 88*

NAC : N-Acétyl Cystéine

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NF-κB : *Nuclear Factor Kappa B*

NK : *Natural Killer*

NLC : *Nanostructured Lipid Carriers*

NLRP3 : *NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3*

NMDA : Acide N-Méthyl-D-Aspartique

NO : Monoxyde d'Azote

NQO1 : NADPH Quinone Oxydoréductase 1

Ns-LTP1 : *Nigella sativa Lipid Transport Protein 1*

OGTT : *Oral Glucose Tolerance Test*

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAF : *Platelet Activating Factor*

PAI-1 : *Plasminogene Activator Inhibitor 1*

PAL : Phosphatase Alcaline

PARP : Poly ADP Ribose Polymerase

PAS : Pression Artériel Systolique

PBD : *Polo Box Domain*

PC : *Protein Carbonyl*

PC-3 : *Prostate Cancer cell lines*

PCC : Pyridinium ChloroChromate

PDA : *Pancreatic Ductal Adenocarcinome*

PDE : PhosphoDiEstérase

PEG : Polyéthylène Glycol

PFT-α : pifithrine-α

PG : Prostaglandines

P-gp : Glycoprotéine P

PI3K : Phosphatidyl Inositol 3 Kinase

PI3P : Phosphatidyl Inositol 3 Phosphate

PKB : Protéine Kinase B

PLCβ3 : Phospholipase C, béta 3

PLGA : Poly Lactide co Glycolide

Plk-1 : Polo-like kinase 1

PMI : Pourcentage de Matière Insaponifiable

PNE : Polynucléaire Eosinophile

PNN : Polynucléaire Neutrophile

PO : per os

PPAR : *Peroxisome Proliferator Activated Receptors*

pRb : Protéine du Rétinoblastome

PTEN : *Phosphatase and TENsin homolog*

PTZ : Pentylenetétrazol

RB1 : *RetinoBlastoma gene*

RhoA : *Ras homolog gene family, member A*

RNS : *Reactive Nitrogen Species*

ROS : *Reactive Oxygen Species*

SaOS-2 : *Sarcoma Osteogenic cell line*

SARM : *Staphylococcus Aureus Résistante à la Méthicilline*

SGLT1 : *Sodium/GLucose coTransporter 1*

SHRs : *Spontaneously Hypertensive Rats*

SIR : Syndrome d'insulino-résistance

SNC : Système Nerveux Central

SOD : SuperOxyde Dismutase

SRAA :
Système Rénine Angiotensine Aldostérone

STAT3 : *Signal Transducer and Activator of Transcription 3*

STZ : Streptozotocine

TAG : Triacylglycérol

T Bars : *ThioBarbituric acid Reactive Substances*

TEAC : *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*

TIMP-1 : *Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1*

TG : Triglycéride

TQ : Thymoquinone

TLR-4 : *Toll Like Receptor 4*

TMS : Triméthylsilyl

TNBS : *TriNitroBenzène Sulfonic acid*

TNF- α : *Tumor Necrosis Factor alpha*

t-PA : *tissue type Plasminogene activator*

TRAF-6 : *TNF Receptor Associated Factor*

UHRF1 : *Ubiquitin-like, PHD Ring Finger 1*

u-PA : *urokinase type Plasminogene activator*

UV : Ultraviolet

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VO₂max : Volume maximal d'oxygène

XIAP : *caspase inhibitor X-linked inhibitor of apoptosis protein*

Introduction

Depuis des siècles, l'homme s'est servi des plantes pour de multiples usages. Avec celles-ci, il a ainsi pu se nourrir, se chauffer, se loger ou encore se soigner. Ce qu'on appelle aujourd'hui médecine traditionnelle ou médecine populaire correspond aux synthèses des différentes expériences thérapeutiques de ces générations de médecins. Les médecines indiennes, chinoises, égyptiennes, gréco-romaines et arabes comportent de très anciens et encore réputés, remèdes à base de plantes utilisés à des fins thérapeutiques. Parmi ceux-ci, nous retrouvons la Nigelle (*Nigella sativa*) qui est utilisée depuis plus de 5 000 ans dans ces pharmacopées. Son huile et ses graines furent employées dans le traitement d'infections, des troubles respiratoires, de la migraine et bien d'autres utilisations encore. La plante est aussi utilisée à des fins culinaires (pains, pâtisseries) ou ornementales. Même si nous commençons à entendre parler d'elle en France, *N. sativa* est relativement peu connue de la population en général ou des professionnels de santé en particulier. Au milieu des années 1960, les premiers travaux et études consacrés à cette plante ont été publiés. Ils s'intéressaient à sa composition chimique, à quelques-unes de ses propriétés pharmacologiques et leurs possibles applications en médecine humaine. Au fil des années, les quelques centaines d'études ont mis en évidence une très grande diversité d'activités thérapeutiques de ses huiles (végétale et essentielle) ou de composés qu'elle accumule comme notamment la thymoquinone, confortant et validant les utilisations traditionnelles de *N. sativa*.

C'est à partir de ce constat que je me suis donc efforcé de regrouper et synthétiser les résultats de toutes ces recherches afin d'avoir une des premières approches sur la réalité médicinale actuelle de *N. sativa*. Par conséquent, l'une des finalités de cette recherche est de mettre en relation les différentes utilisations traditionnelles de cette plante avec les données contemporaines, et ainsi juger du bien-fondé de ces anciennes pharmacopées. C'est ainsi qu'est définie l'ethnopharmacologie : l'étude scientifique interdisciplinaire de l'ensemble des matières d'origine végétale, animale ou minérale, et des savoirs ou des pratiques s'y rattachant, mises en œuvre par les cultures traditionnelles pour modifier l'état des organismes vivants, à des fins thérapeutiques, curatives, préventives ou diagnostiques.[1] Pour la réalisation de ce travail, la grande majorité des études de recherche est issue des sites Internet www.pubmed.com et accessoirement www.sciencedirect.com jusqu'au mois d'août 2014.

Suite à un premier travail bibliographique, j'ai complété par la consultation des thèses de doctorat de Mme Fabienne Orsi-Llinares *La nigelle, une épice d'intérêt médicinal* [2] et de M. Cihan Toparlan *A propos de Nigella sativa L.* [3]

Au vu de la grande quantité de données à résumer, certaines limites ont été posées afin de faciliter la lecture :

- Les affirmations seront référencées, ce qui permettra au lecteur de revenir à la publication concernée (ou à son résumé). Cette bibliographie est exposée à la toute fin du document.
- Pour des raisons de synthèse, les expériences menées ne seront pas toujours expliquées sauf si l'intérêt y est (étude chez l'homme par exemple). Nous nous contenterons des résultats et conclusions des différents auteurs.
- La signification des différentes abréviations utilisées est présentée en tout début du document avant cette introduction.

I. Généralités

A. *Nigella sativa* au cours de l'Histoire

1. Ses différents noms

Utilisée depuis des millénaires, la Nigelle a connu plusieurs noms selon les pays et les régions dans lesquelles elle était utilisée. On la nommait *Ach-chinqat* dans l'Égypte Ancienne, *Kalonji* (énergie chaude) ou *Al-Kamoun Al-Indî* (le cumin indien) en Inde et au Pakistan, *Hak Jung Chou* dans la médecine chinoise, le *Melathion* (fleur noir) ou le *Gith* dans la médecine gréco-romaine. En vieux latin, elle était connue sous le nom de *Panacea* (qui guérit tout) ou aussi *mecon agria melana*. En hébreux, elle est *Kezah*. Dans la Bible, selon les différentes éditions, on la retrouve sous les noms de *Cumin noir curatif*, *Nielle*, *Aneth*, *Vesce*, *Ach-Chawnîz*. En Perse (actuel Iran), il s'agit d'*Ach-Chounîz* ou de *Siyâh Dâneh*. Les turcs la nomment *çörek otu*. Dans la péninsule arabique, on lui compte aussi plusieurs noms : *Al-Kamoun Al-Aswad* (le cumin noir [en référence à ses graines]), *Al-Habbat As-Sawdah* (la graine noire), *Al-Habbat Al-Moubâarakah* (la graine bénie) *As-Samîrah*, *Ach-Chounîz*, *Al-Qahtah*, *At-Tachmizaj*, *Al-Jamachak*, *Al-Bachamah*. Dans les pays du Maghreb, on l'appelle *Al-Kamoun*, *As-Sinouj* ou *As-Sanouj*. Les Anglais la nomment *Black seed*, *Black cumin*, *Black caraway*, *Common Fennel flower*, *Nutmeg flower*, *Romain coriander*. Puis en France, nous la retrouvons sous les noms de *Nigelle cultivée*, *Nigelle des jardins*, *Nigelle de Crète*, *Nielle*, *Nielle du Levant*, *Nielle romaine*, *Cumin noir*, *Faux cumin*, *Quatre-épice*, *Tout-épice*, *Sésame noir*, *Herbe aux épices*, *Poivrette* et *Cheveux de Vénus*. [3-16]

Son nom scientifique est *Nigella sativa* Linn. [1753, Sp. Pl. : 534]. Il vient de *Nigellus*, le diminutif de *Niger* qui signifie noir.

2. Ses utilisations

a) *En Mésopotamie*

Des tablettes d'argile datant de près de 5 000 ans ont été retrouvées en Mésopotamie où différentes plantes étaient répertoriées. Parmi celles-ci nous retrouvons entre autres la nigelle. [3]

b) Dans l’Egypte Ancienne

N. sativa aurait été utilisée pour ses propriétés thérapeutiques, ainsi que comme condiment et cosmétique. Dans la traduction de l’ouvrage des docteurs Schleicher et Saleh, *Guérir au naturel avec le cumin noir d’Egypte*, il est affirmé que les graines étaient prises à la suite de repas copieux, contre les cas de refroidissement, pour le traitement des céphalées et des douleurs dentaires. On dit qu’une fiole de son huile aurait été retrouvée dans le tombeau du pharaon Toutankhamon. Elle aurait aussi été utilisée par Néfertiti et Cléopâtre en usage cosmétique. Une sucrerie, *Al-Moufattaqah* (la déchirante) est préparée encore aujourd’hui à partir de *N. sativa*. [17-18]

c) En Chine et dans l’Inde Antique (médecine ayurvedique)

On dit que *N. sativa* était utilisée en Chine comme antibiotique naturel et en Inde comme stimulant, sudorifique, diurétique, ainsi que pour faciliter la survenue des menstrues et la lactation.[19]

d) Dans l’Antiquité Gréco-Romaine

Hippocrate décrit *N. sativa* par le terme de *Melanthion* et lui attribue des propriétés thérapeutiques dans les troubles hépatiques et digestifs.[20]

Dans son *Histoire Naturelle*, Pline y décrit ses vertus : « *Des auteurs grecs donnent au « Gith » des Latins le nom de « Melanthium » ou de « Melanspermon » : on regarde comme le meilleur celui qui est le plus noir, et qui a l’odeur la plus pénétrante. Il est utile contre la morsure des serpents et la piqure des scorpions. On l’applique, avec du vinaigre et du miel. Brûlé, son odeur chasse les serpents ; on le prend en potion, à la dose d’une drachme¹, contre la morsure des araignées venimeuses. Broyé, lié dans un linge, et flairé, il guérit les rhumes de cerveau ; appliqué avec du vinaigre, et introduit dans les narines ; il calme les douleurs de tête ; avec de l’huile d’iris, il dissipe les inflammations et les enflures des yeux ; cuit avec du vinaigre, il apaise le mal de dents ; broyé ou mâché, il guérit les ulcères de la bouche ; appliqué avec du vinaigre, il détruit la lèpre et les taches de rousseur ; pris en breuvage avec*

¹ **Drachme** : Unité ancienne de masse, utilisée depuis l’Antiquité. La drachme grecque valait 1/100 de mine grecque, soit environ 4,36 grammes. La drachme romaine valait 1/96 de livre romaine, soit 3,41 grammes.

du nitre², il convient aux asthmatiques ; appliqué à l'extérieur, il résout les duretés, les tumeurs anciennes et les abcès ; pris plusieurs jours de suite, il augmente le lait aux femmes qui nourrissent. On recueille le suc du gith, comme celui de la jusquiame. Mais, pris à trop haute dose, il est pareillement un poison ; chose étrange, car sa graine donne au pain une saveur agréable. Cette graine nettoie les yeux, et pousse les urines et les règles : nous lisons même que trente grains seulement, liés dans un linge, font sortir l'arrière-faix³. On prétend que, broyée dans l'urine, et appliquée sur les cors aux pieds, elle les détruit ; que, si on la brûle, son odeur tue les moucherons et les mouches. » [9]

Quant à Dioscoride, il conseille de la frictionner sur le front pour calmer les migraines. Elle dissipe les fluxions oculaires. Frictionnée avec du vinaigre, elle enlève les taches de rousseur, la lèpre ou encore les œdèmes. Appliquée avec du vieux vin, elle enlève les cors. Elle est utile contre les maux de dents, les vers ronds, la congestion nasale. Bue pendant plusieurs jours, elle est emménagogue (provoque ou régularise les menstrues) et galactogène. Elle est aussi diurétique. En décoction avec du vin, elle améliore la respiration. Elle est aussi efficace contre les morsures d'araignées et fait fuir les serpents en fumigation. Avec d'autres plantes de son genre (*N. hortensis altera*, *N. angustifolia*, *N. damascena*, *N. arvensis*) il la classe comme plante à poison, car à fortes doses, en potion, elle peut provoquer la mort. [14]

Galien rapporte les mêmes propriétés que ses prédécesseurs.

e) *Au Moyen-Âge dans le monde Arabo-Musulman*

Les préceptes de la médecine arabo-musulmane de l'époque viennent d'une part de leur tradition religieuse et d'autre part de l'influence importante de la médecine grecque d'Hippocrate et de Galien dont certains ouvrages furent traduits durant le IX^{ème} siècle. D'ailleurs, dans son encyclopédie sur les plantes médicales, Ibn Al-Baytâr y dit que la moitié des résultats présents sont attribués à Galien et que l'autre moitié vient de Dioscoride. [21]

Du côté de la tradition musulmane, nous retrouvons dans plusieurs recueils de hadith des paroles concernant *N. sativa*. Parmi celles-ci, dans ceux des imâms Al-Boukhârî et Mouslim : « Dans *Al-Habbat As-Sawdah*, il y a certes un remède pour toutes les maladies, sauf *as-sâm*. » [5, 22] Le terme *as-sâm* désigne la mort comme l'explique ibn Chihâb Az-Zouhrî, l'élève des compagnons du Prophète Mohammed [23]. *Al-Habbat As-Sawdah* correspond à *N.*

² *Nitre* : Il s'agit du nitrate de potassium (KNO₃)

³ *Arrière-faix* : Le placenta

sativa comme cela a été expliqué au début de ces généralités. Quant à la parole « *toutes les maladies* », elle est expliquée de trois façons différentes.

Tout d’abord en se basant sur une règle de jurisprudence et de langue arabe – Une généralité sous-entend une particularité – qui permet d’expliquer que toutes les maladies ne sont pas forcément concernées dans cette parole. [19]

La seconde explication est de prendre la parole dans son sens absolu, c'est-à-dire que *N. sativa* guérit vraiment toutes les sortes de maladies. Pour paraphraser Ibn Hajar qui expliqua le recueil de l’imâm Al-Boukhârî, nous pouvons résumer ainsi : *N. sativa* est un remède à tout en fonction de la manière par laquelle on l’utilise, que cela soit du point de vue de la forme galénique ou de l’association à d’autres produits actifs. [17, 24]

Le dernier avis nous vient de la théorie des humeurs empruntée à Hippocrate (fig. 1) Celle-ci considère que la santé de l’âme et celle du corps résident dans l’équilibre des humeurs (sang, phlegme ou lymph, bile jaune et bile noire ou atrabile) et des qualités physiques (chaud, froid, sec et humide) qui les accompagnent. Selon la prédominance de ces qualités, quatre tempéraments fondamentaux sont déterminés : le bilieux (chaud et sec), l’atrabilaire (froid et sec), le flegmatique (froid et humide) et le sanguin (chaud et humide). Lorsqu’il y a un déséquilibre, il apparaît alors des maladies physiques mais aussi des troubles psychiques.[25-26]

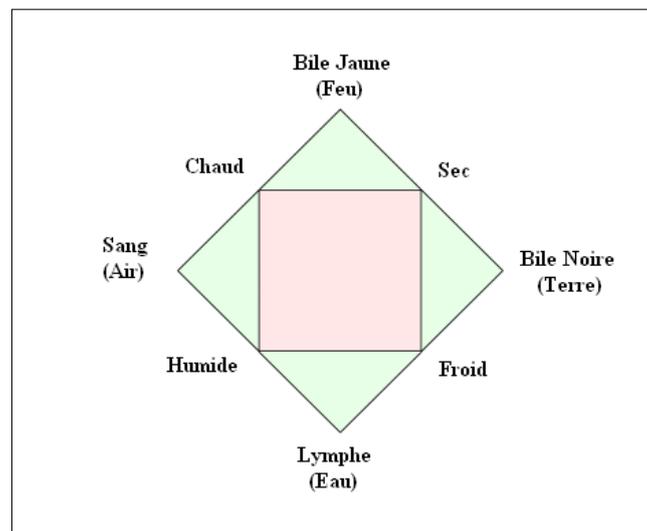


Figure 1 - La théorie des humeurs

N. sativa est considérée comme chaude et sèche, ainsi on dit qu'elle possède un tempérament bilieux. Elle est donc efficace contre les maladies lymphatiques (humides et froides) de l'hiver. Ibrâhim Al-Azraq dit à son propos : “ *Si quelqu'un s'interroge comment Ach-Chounîz guérit toutes les maladies, cependant qu'elle a un tempérament chaud et sec, nous répondons que nous avons déjà montré que c'était l'habitude de dire fréquemment et que la plupart des maladies des arabes sont dues à un excès de froid ou d'humidité.* ”[19]

Les médecins arabes de l'époque ne se contentèrent pas de reprendre les travaux des auteurs qui les avaient précédés. Ils complétèrent ce savoir par des observations cliniques et plusieurs encyclopédies furent écrites, notamment *Canon de la médecine* d'Avicenne qui donne à *N. sativa* ces vertus : suppression des ballonnements, des verrues, du vitiligo, des ulcères, de la grippe, de la migraine, des congestions, de la fièvre. Elle est efficace contre l'asthme et, en fumigation fait fuir les insectes.[27]

f) Au Moyen-Âge en Europe

La Nigelle était utilisée tant pour ses vertus médicinales que comme condiment. On l'utilisait contre les flatulences, la diarrhée, les troubles de l'estomac et des poumons, pour traiter la jaunisse, comme diurétique, galactogène chez la femme allaitante. Elle figure sous le nom de *Gith* à l'article 70 du Capitulaire De Villis⁴. [28]

A partir de 18^{ème} siècle, elle fut oubliée et la Nigelle devint alors une plante ornementale. [17]

g) De nos jours

Au début des années 1960, l'intérêt perdu pour *N. sativa* revient avec les travaux d'Al-Dakhakhny. Les études mettent en avant pour la première fois plusieurs propriétés thérapeutiques : actions antibactériennes [29-30] , anthelminthiques [30], antifongiques[31], galactagogues[32-33] et antagonistes de l'histamine H1[34].

En 1975, l'équipe d'Al-Fatary met en évidence un premier principe actif retrouvé dans l'huile volatile de *Nigella sativa* : la thymohydroquinone. Ce premier composant se trouve avoir des propriétés antimicrobiennes, notamment contre les bactéries gram positif. [35]

⁴ *Capitulaire De Villis* : acte législatif datant de la fin du VIII^e siècle où Charlemagne y édicte un certain nombre d'ordres et de recommandations pour les gouverneurs de ses domaines. L'article 70 énumère 94 plantes qui doivent être cultivées dans les domaines du royaume.

Concernant ses diverses utilisations, en France nous retrouvons *N. sativa* vendue principalement sur Internet dans des boutiques en ligne. A titre d'exemple, il y a celle vendue par PRANAROM (fig.2) qui est disponible en officine. Elle est vendue sous forme de graines, d'huile (encapsulée ou non), de gélule, mais aussi sous forme de savon, de tisane et même de bonbon en association avec du miel ou de la menthe. On retrouve du miel aussi produit à partir des fleurs de *N. sativa*. Ses utilisations visent plusieurs états pathologiques touchant à la plupart des systèmes du corps. Il est étonnant de retrouver pour chacun des cas traitables des « recettes » permettant le traitement. Les références scientifiques relevées ne parviennent que de quelques livres et articles disponibles en français et sont recopiées tel quel le plus souvent. On la retrouve aussi citée comme ingrédient de recettes de cuisine. Sur quelques forums de discussion, on y retrouve des témoignages de son utilisation : seule ou en mélange (miel, huiles essentielles) pour des indications variées : perte de poids, infection, douleur. [36-39]



Figure 2 - Huile végétale de Nigelle 50 mL

Nous pouvons retrouver dans le tableau suivant (tab. 1) le récapitulatif des utilisations de *N. sativa* sus-mentionnées.

**RECAPITULATIF DES PROPRIETES ET UTILISATIONS THERAPEUTIQUES
TRADITIONNELLES
DE *N. SATIVA***

Abcès	Acariose
Alopécie	Aménorrhée (Emménagogue)
Asthme	Apoplexie
Avortement	Ballonnements
Bronchite	Calculs rénaux et vésicaux
Céphalée	Chancre
Chlorose	Congestion
Cors	Diarrhée
Douleur	Dysménorrhée
Essoufflement	Fatigue
Fièvre	Flatulences
Galactogène	Gale
Grain de beauté	Grippe
Hémorroïde	Ictère
Impétigo	Infarctus
Infections bactériennes	Infections urinaires
Inflammation	Insectifuge
Intoxications alimentaires	Lèpre
Migraine	Morsures serpents, tarentules
Nausées	Œdème
Paralysie	Piqûres de scorpion
Points noirs	Poux et lentes
Rage	Rhume
Sudorifique	Surdité
Toux	Troubles digestifs
Troubles de l'érection	Troubles hépatiques
Troubles respiratoires	Tumeurs
Ulcères	Verrues
Vers intestinaux	Vertiges
Vitiligo	Vomissements

Tableau 1 – Récapitulatif des utilisations thérapeutiques traditionnelles de *N. sativa* [15, 21, 23, 27, 40-46]

Ainsi nous constatons à partir de ce tableau, la large utilisation de *N. sativa*. En effet, nous pouvons affirmer qu'elle fut par le passé utilisée, dans la plupart si ce n'est dans toutes les

classes thérapeutiques dont nous nous servons aujourd'hui, pour répartir les diverses molécules à actions thérapeutiques. Elle se trouve donc utilisée dans le traitement de la douleur et de l'inflammation. On l'utilise dans le traitement de diverses infections, qu'elles soient bactériennes, virales, fongiques ou parasitaires. Ses propriétés diurétiques étaient utiles contre les calculs rénaux et sûrement au niveau cardiovasculaire. *N. sativa* était appliquée sur la peau comme traitement dermatologique et antiallergique. En nutrition aujourd'hui, son huile est prise généralement pour la perte de poids. Elle aurait des activités neurologiques permettant de traiter les migraines et céphalées. Au niveau du système respiratoire, on l'utilisait contre l'asthme et les essoufflements. Enfin, *N. sativa* était aussi utile comme antidote contre diverses intoxications.

B. Aspects botaniques de *Nigella sativa*

1. La systématique de *Nigella sativa*

- **Règne** : Plantae
- **Sous-règne** : Tracheobionta
- **Division** : Magnoliophyta (angiosperme)
- **Classe** : Magnoliopsida (dicotylédone)
- **Ordre** : Ranunculales
- **Famille** : Ranunculaceae
- **Genre** : *Nigella*
- **Espèce** : *Nigella sativa* [11]

2. Particularités de la famille des Renonculacées

Dans la flore d'Europe, il est à noter que la plupart des renoncules sont toxiques. Elles renferment un principe actif irritant, la protoanémone.

A titre d'exemple, *Ranunculus sceleratus* (renoncule scélérate) contient dans son suc la ranunculine qui, sous l'effet de la mastication est transformée en protoanémone. Son ingestion déclenche une salivation excessive, des douleurs abdominales et une inflammation de la bouche pouvant aller jusqu'à son ulcération sévère, ainsi que celui du système digestif et de l'appareil urinaire. L'animal, le plus souvent un bovin, est pris de diarrhée, se met à avoir une démarche instable et peut perdre partiellement ou totalement la vision. Les cas mortels

sont toutefois rares et se limitent généralement à des brûlures buccales du fait de la causticité des sucs. Le suc de la renoncule vénéneuse (*R. thora*) servait de poison aux flèches pour la chasse aux loups. [47-48]

Dans la même famille, *Aconitum napellus* (aconit napel) contient l'aconitine qui est mortelle pour l'homme en quelques heures par paralysie respiratoire et dysrythmie ventriculaire. [49]

Certaines plantes de cette famille ne sont utilisées aujourd'hui qu'en homéopathie. Ainsi, nous retrouvons dans la formulation de la spécialité Sédatif PC® *Aconitum Napellus* 6CH.

La suite de l'exposé va permettre d'apprécier la place que tient *N. sativa* au sein de la famille des renoncules.

3. Les différentes espèces du genre *Nigella*

Nigella vient du latin nigellus qui est le diminutif de niger signifiant noir du fait de la couleur de ses graines. Il existe une trentaine d'espèces répertoriées à ce jour. Les plus connues sont *Nigella sativa* (Nigelle cultivée), *Nigella arvensis* (Nigelle des champs), *Nigella damascena* (Nigelle de Damas) qui est cultivée comme plante ornementale et *Nigella orientalis* (Nigelle orientale). Elles sont mentionnées dans le tableau suivant (tab. 2 – fig. 3) :

<i>N. assyriaca</i> Z.	<i>N. arvensis</i> L. (Nigelle des champs)
<i>N. amoena</i> S.	<i>N. bicolor</i>
<i>N. bucharica</i>	<i>N. carpatha</i>
<i>N. ciliaris</i>	<i>N. cilicica</i>
<i>N. corniculata</i> D.C.	<i>N. cretica</i>
<i>N. damascena</i> L. (Nigelle de Damas)	<i>N. degenii</i>
<i>N. deserti</i>	<i>N. divaricata</i>
<i>N. doerfleri</i>	<i>N. elata</i> B.
<i>N. fumariifolia</i> K.	<i>N. gallica</i> (Nigelle de France)
<i>N. glandulifera</i> (Nigelle de Chine)	<i>N. hispanica</i> (Nigelle d'Espagne)
<i>N. indica</i>	<i>N. lancifolia</i> H.
<i>N. latisecta</i> P.H.D.	<i>N. nigellastrum</i> (Garidelle fausse nigelle)
<i>N. orientalis</i> (Nigelle orientale)	<i>N. oxypetala</i> L.
<i>N. papillosa</i>	<i>N. persica</i>
<i>N. sativa</i> L.	<i>N. segetalis</i> B.
<i>N. stellaris</i> B.	<i>N. truncata</i>
<i>N. unguicularis</i> L.S.	<i>N. verrucosa</i>

Tableau 2 - Les différentes espèces du genre *Nigella*[3, 50-52]

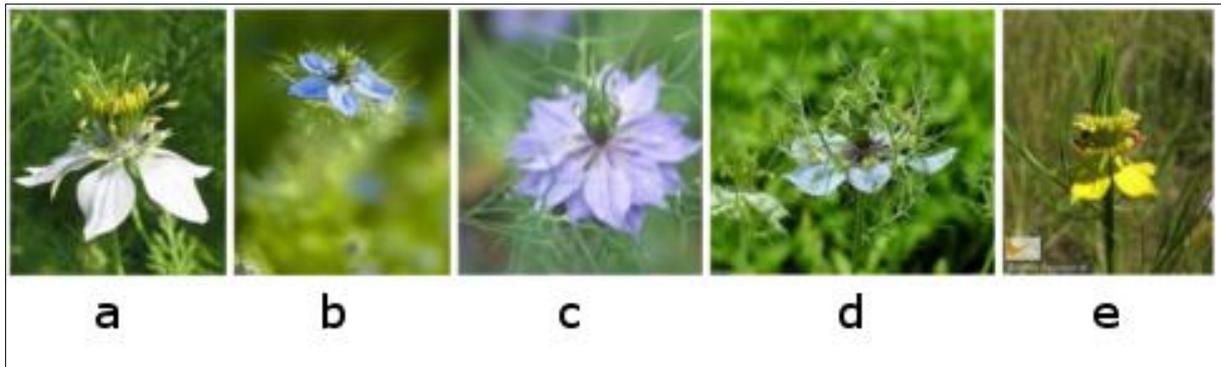


Figure 3 - Représentation de différentes espèces du genre *Nigella*.

(a-b) *N. sativa* (c) *N. damascena* 'Cambridge Blue' (d) *N. arvensis* (e) *N. orientalis*

4. *Nigella sativa* L.

La nigelle cultivée est principalement rencontrée aujourd'hui en Afrique du Nord, en Turquie, ainsi qu'en Syrie, en Arabie Saoudite, en Iran, au Pakistan et en Inde. Elle est rare en Europe (champs du Midi en France) mais se trouve quelquefois dans les jardins.

Les pays producteurs les plus importants (en 2003) sont l'Égypte, l'Inde, le Pakistan, l'Iran, l'Irak, la Syrie, l'Arabie Saoudite et la Turquie. Elle est aussi cultivée dans les pays du sud de l'Europe. Cependant peu de données sur sa production et son commerce sont disponibles, elle est généralement incluse dans les statistiques à l'intérieur de la catégorie « Autres Espèces ».[11, 15, 53]

Nigella sativa (fig. 4) est une plante herbacée annuelle. Elle croît jusqu'à une taille de 30- 60 cm environ. Sa tige est velue. Ses feuilles vertes, brillantes sont basales et caulinaires, alternes, bi à tri pennatiséquées, composées de segments linéaires. Ses fleurs sont actinomorphes et bisexuées, généralement solitaires et terminales, elles sont axillées par un verticille de 5-6 bractées sépaloïdes et involucrées, pennatiséquées : elles se composent de 5-25 sépales persistants, libres et pétaloïdes, de 5 à 10 pétales libres, petits, parfois absents de couleur bleu clair ou blanc veinées de vert, de 15 à 75 étamines libres et d'un ovaire supère constitué de 5 à 10 carpelles libres ou connés à la base. Ses fruits sont des follicules connés partiellement, sessiles et fréquemment renflés, s'épanouissent entre avril et juin, et sont récoltés avant maturité complète pour conserver les graines à l'intérieur qui sont dures et noires. A l'écrasement, les graines dégagent une odeur anisée caractéristique. Son goût est aussi spécifique. Elles sont triangulaires et anguleuses de 2 à 3,5 mm de long. [11, 19, 52]

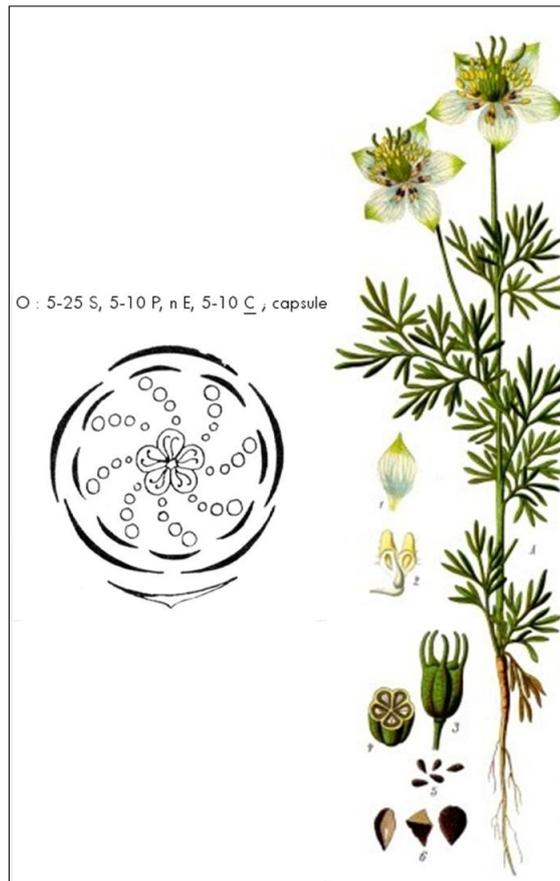


Figure 4 - Formule florale, diagramme floral et représentation de *N. sativa*



Figure 5 - Les graines de *Nigella sativa*

5. Obtention de l'huile de Nigelle

L'intérêt thérapeutique de *N. sativa* réside en grande partie dans l'utilisation de son huile obtenue à partir de la récolte de ses graines.

L'huile végétale de nigelle peut être obtenue par pression à froid (extraction mécanique) ou par des techniques de pression à chaud permettant un meilleur rendement. L'huile peut être aussi extraite chimiquement avec l'aide d'un solvant. Les huiles obtenues à chaud ou au moyen de produits chimiques doivent subir par la suite un raffinage par une série de divers traitements plus ou moins nocifs pour certains composés de l'huile pouvant ainsi diminuer sa qualité.

La qualité de l'huile va donc dépendre tout d'abord de la qualité des graines qui dépendent elles-mêmes des conditions de culture (qualité du sol, altitude, climat, technique de culture, parasitisme) et de récolte (maturité des graines, mode de récolte, sélection des graines, conditions de stockage). Les conditions d'extraction sont aussi importantes, de même que les moyens de conditionnement et de conservation (verre teinté à l'abri de l'air et de la lumière au frais de préférence).[15, 18]

II. Composition de l'huile de la graine de *N. sativa*

Les différentes études sur la composition de l'huile de nigelle ont permis de mettre en avant sa grande richesse et de sa grande variété de composés. En effet, en regroupant les différentes études sur le sujet, on dénombre à ce jour plus de 200 composés différents.

En raison des divers lieux de récolte des spécimens, des différents climats, des méthodes de cultures et d'analyses ainsi que d'autres facteurs, la composition finale de la graine peut varier d'une étude à l'autre. Quantitativement, la majorité des composés découverts se trouvent en faibles proportions dans l'huile essentielle.

A. Composition générale de la graine de *Nigella sativa*

Les graines sont composées de lipides, de glucides et de protides. Selon les études les proportions de ces produits varient mais restent dans un même ordre de grandeur. Au total, il a été montré qu'elles comprenaient entre 22,0 et 53,4 % de lipides, entre 23,5 et 40 % de glucides, et entre 20,0 et 31,2 % de protides. Les cendres ont une valeur comprise entre 3,7 et 4,8 % et l'humidité entre 2,6 et 7,4 %. On y retrouve aussi des vitamines et différents minéraux. [54-59] Le faible pourcentage d'humidité retrouvé dans les graines pourrait augmenter leur durée de vie durant leur conditionnement et leur stockage. Cela limiterait aussi les risques de contamination fongique.

B. L'huile végétale (huile fixe)

1. Composition en lipides simples

Les lipides simples représentent environ 97 % du total lipidique de l'huile végétale de *N. sativa*. Les lipides complexes représentés par les glycolipides et les phospholipides représentent les 3 % restant. [60-61]

a) Glycérides (ou acylglycérols)

Dans l'huile de nigelle, les triglycérides sont les lipides simples majoritaires, ils représentent environ 80 % du total. Les études d'El-Mallah et de Khoddami ont permis d'en mettre en évidence une vingtaine différente (tab. 3).

TAG	ECN	TAG (%)	TAG	ECN	TAG (%)	TAG	ECN	TAG (%)
XLL	40	0,4	XPP	44	0,2	LSP	48	1,0
LLL	42	18,1	LOO	46	9,6	POP	48	1,2
XLO	42	0,3	LOP	46	13,4	OPP	48	1,17
XLP	42	0,2	LPP	46	2,2	PPP	48	0,2
XXS	42	0,1	OOO	48	3,2	OOS	50	1,1
LLO	44	16,1	LOS	48	3,1	LSS	50	0,3
LLP	44	16,5	OOP	48	3,2	POS	50	0,7

Tableau 3 - Analyse HPLC d'espèces de triglycérides dans l'huile de *N. sativa* - ECN : Equivalent Carbon Number⁵ – TAG : Triacylglycérol – X,L,O,S et P : acides linoléique, linoléique, oléique et palmitique respectivement[56-57, 62]

b) Acides gras libres

Ils représentent entre 14,3 et 16,2 % de la quantité totale de l'huile végétale. Après les triglycérides, ce sont donc les seconds composés majoritaires.

Selon les études, on retrouve à hauteur de 70 – 86 % le taux d'acide gras insaturés dans l'huile. Parmi ceux-ci l'acide linoléique est le composé majoritaire (45,5 – 70,8 %), suivi par l'acide oléique (16,2 – 25,0 %) et par un acide gras saturé, l'acide palmitique (9,5 – 18,4 %). [54-59, 63-65]

c) Stérols et esters de stérols

Les stérols sont présents dans les huiles végétales sous deux formes : une forme libre et une forme estérifiée. Dans son étude, l'équipe d'El-Mallah évalue ses formes à 63 % et 37 % respectivement.

Concernant la teneur en phytostérols libres dans l'huile de *N. sativa*, elle est évaluée entre 0,2 et 1 % du total lipidique. En regroupant les différentes études analytiques, nous retrouvons

⁵ ECN : notion pour la caractérisation des fractions pétrolières étroites. Paramètre renseignant sur le nombre d'atomes de carbone moyen des hydrocarbures contenus dans ces fractions.

une vingtaine espèces différentes divisées en trois catégories (stérol, 4-méthyl stérol et alcool triterpénique). Elles sont présentées dans le tableau suivant (tab. 4). [2]

Le β -sitostérol est le stérol majoritaire de la plupart des huiles végétales. Nous voyons ici que c'est aussi le cas pour l'huile de *N. sativa*. [2, 56-58, 60, 66-68]

Quant aux phytostérols estérifiés, ils sont généralement liés à des lipides en C₁₆ (acide palmitique) et en C₁₈ (acides oléiques et linoléiques).

Stérol	Quantité	4-méthyl stérol	Quantité
β -sitostérol	44,53 – 59,10 %	24-méthyllophénol	45,6 – 48,2 %
5-stigmastérol	16,50 – 20,92 %	Cycloeucaléol	
Isofucostérol	14,4 %	Gramistérol	
Campéstérol	10,00 – 13,76 %	Obtusifoliol	26,00 – 40,00
Triméthylsilyl 484	9,33 – 11,08 %	Citrostadéniol	10,5 – 28,4 %
Δ 7-stigmastérol	1,60 – 2,22 %	Lophénol	1,3 %
Δ 7-avénastérol	1,17 – 2,24 %	4-éthyllophénol	Traces
Cholestérol	0,93 – 1,28 %	Alcool Triterpénique	Quantité
β -sitostanol	44 – 67 mg/100 g	24-méthylèncycloartanol	52,00 – 64,2 %
Δ 5-avénastérol	925 – 1025 μ g/g	Cycloartéol	31,6 – 39,6 %
Lanostérol	106 – 114 μ g/g	β -amyrine	3,2 – 7,1 %
Stigmastanol		Butyrospermol	
Campestanol		Taraxérol	1,00 – 1,30 %
		Tirucallol	Traces

Tableau 4 - Les stérols présents dans l'huile de *N. sativa*

d) Tocophérols

Il apparaît que nous retrouvons toutes les espèces de tocophérols dans l'huile végétale de *N. sativa* (tab. 5). Ils représentent environ 0,021 % du total lipidique. L' α -tocophérol et le γ -tocophérol sont les espèces majoritaires dans chacune des études.

Huile	Tocophérols totaux (ppm)	Composition en Tocophérol (%)			
		α -T	β -T	γ -T	δ -T
Nigella	209	7,9	-	90,8	1,3

Composés	Huile de <i>N. sativa</i>
α -tocophérol (g.kg ⁻¹)	0,284 \pm 0,01
β -tocophérol (g.kg ⁻¹)	0,040 \pm 0,01
γ -tocophérol (g.kg ⁻¹)	0,225 \pm 0,02
δ -tocophérol (g.kg ⁻¹)	0,048 \pm 0,01

Tableau 5 - Profil des tocophérols dans l'huile de nigelle (T : Tocophérol)[57, 64]

Dans ces études, il apparaît que la quantité totale de tocophérols dans l'huile végétale de *N. sativa* (597 mg/kg) concorde avec les quantités que l'on retrouve habituellement dans les autres huiles (500 à 1500 mg/kg). [2]

2. Composition en lipides complexes

a) Glycolipides

L'équipe de Ramadan a réussi à séparer la totalité des glycolipides contenus dans l'huile de nigelle par chromatographie sur gel de silice. L'équipe a évalué ainsi un taux de glycolipides de 2,59 g/100 g d'huile. Six sous-classes ont pu être identifiées au sein desquelles le diagalactosyldiacylglycérol était le composé majoritaire (55,6 %), suivi du cérebroside (11,9 %).

Le profil du contenu de ces glycolipides en acide gras est généralement similaire d'une sous-classe à l'autre. Ainsi l'acide linoléique est l'acide gras prédominant, suivi de l'acide oléique et de l'acide palmitique.

Six types de stérols ont aussi été identifiés. On y retrouve le stigmastérol, le β -sitostérol, le Δ 5-avénastérol, le Δ 7-avénastérol, le campestérol et l'isofucostérol.

Concernant les composants glucidiques, le glucose et le galactose sont les seuls sucres détectés.[57, 64]

En se référant aux besoins journaliers chez l'homme, Sugawara et Miyazama démontrent que l'huile de nigelle peut être une excellente source complémentaire en glycolipides. [60]

b) Glycérophospholipides

La phosphatidylcholine représente la sous-classe majoritaire de glycérophospholipides présents dans l'huile (46 – 48 %). Elle est suivie de la phosphatidyléthanolamine, de la phosphatidylsérine et du phosphatidylinositol. Le phosphatidylglycérol, la *lyso*-phosphatidyléthanolamine et la *lyso*-phosphatidylcholine ont aussi été isolés, mais en faible quantité.

Les acides gras prédominants dans les différentes fractions étaient les acides linoléiques, oléiques et palmitiques.[58]

3. Composition en glucides

Lors de l'étude de la composition glycolipidique de l'huile de nigelle, l'équipe de Ramadan n'a pu mettre en évidence que du glucose. Cependant, l'hypothèse du remplacement partiel voire total des galactosyles en glucosyles est évoquée. [58]

Plus tard, l'équipe de Gupta mettra en évidence la présence de maltose et de saccharose par extraction alcoolique de l'huile de *N. sativa*. [69]

Dernièrement, dans l'étude des métabolismes des graines de *N. sativa*, des chercheurs montrent que le taux de glucides commence par augmenter au début du développement (arabinose, lyxose, xylose) puis diminue pour laisser apparaître d'autres sucres comme le galactinol et le raffinose dont la présence est liée à l'étape de dessiccation. [70]

4. Composition en protides

Nous retrouvons dans l'huile de nigelle 18 acides aminés dont la totalité des acides aminés essentiels : alanine, cystine, acide aspartique, acide glutamique, phénylalanine, glycine, histidine, isoleucine, lysine, leucine, méthionine, proline, arginine, sérine, thréonine, valine, tryptophane et tyrosine. [2, 60, 71]

En 2009, une équipe russe a isolé des graines de *N. sativa* une protéine transporteuse de lipides Ns-LTP1 d'une masse moléculaire de 9602 Da et contenant 8 résidus cystéines formant 4 ponts disulfures. La protéine serait capable de supprimer le développement de certains champignons et oomycètes. [72]

5. Autres composés

a) *Eléments minéraux*

Parmi les éléments minéraux retrouvés dans l'huile de nigelle, nous pouvons citer ceux décrits par l'équipe de Cheikh-Rouhou : potassium (783 et 708 mg/kg), magnésium (235 et 260 mg/kg), phosphate (48,9 et 51,9 mg/kg), sodium (20,8 et 18,5 mg/kg), fer (8,65 et 9,42 mg/kg), zinc (8,04 et 7,03 mg/kg) manganèse (4,43 et 3,37 mg/kg) et cuivre (1,65 et 1,48 mg/kg). [55] Plus récemment, Al-Jasass montre que les graines de *N. sativa* contiennent un fort taux de potassium (823 mg/100g), suivi par le calcium (160 mg/100g), le magnésium (80

mg/100g) et le fer (65 mg/100g). Elle contient aussi des faibles taux de zinc (2,5 mg/100g), de manganèse (1,5 mg/100g) et de cuivre (0,9 mg/100g). [59]

Plusieurs autres études ont aussi permis de détecter du sélénium. [73]

Les différences dans les résultats obtenus peuvent être dues à des facteurs environnementaux qui prévalent dans les zones de production, aux cultivars utilisés pour produire les graines et aussi en raison des différentes méthodes utilisées pour préparer les graines.

b) Vitamines

Concernant les différentes vitamines rencontrées dans l'huile de nigelle, nous pouvons noter la présence de rétinol (vitamine A), d'acide ascorbique (vitamine C), de thiamine (vitamine B1), de riboflavine (vitamine B2), de niacine (vitamine B3), de la pyridoxine (vitamine B6), d'acide folique (vitamine B9) et des différents dérivés du tocophérol (vitamine E). [2, 57, 64, 73-75]

C. L'huile essentielle (huile volatile)

On évalue entre 0,4 et 2,4 % la proportion d'huile essentielle contenue dans la graine de *N. sativa*. C'est dans celle-ci que l'on trouvera le plus grand nombre de composés (plus de 100 découverts à ce jour). [60, 76]

Les composés sont synthétisés dans le cytoplasme des cellules. Par la suite, ces composants migrent et sont excrétés par les poches à essence de la plante. Par des techniques d'hydrodistillation, les molécules aromatiques de l'huile peuvent être ainsi isolées.

Ils sont synthétisés par deux voies principales :

- La voie des terpènes à partir de l'isopenténylpyrophosphate qui par combinaisons donne naissance à des structures plus complexes (mono-, sesqui-, diterpènes)
- La voie des phénylpropanes qui produit des composés en C₉ et leurs dérivés

En dehors de ces deux voies, il existe d'autres voies de biosynthèse qui produisent des molécules en plus faibles quantités (alcools, aldéhydes, acides...). [77]

Ainsi, les constituants principaux retrouvés dans l'huile essentielle de *N. sativa* sont :

- Monoterpènes : p-cymène (7-16 %), **thymoquinone (28-57 %)**, thymohydroquinone, γ -terpinène, α -thujène, α -pinène

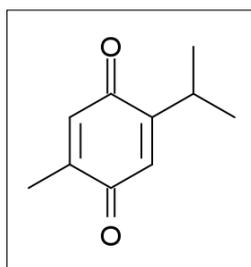


Figure 6 - Structure de la Thymoquinone

- Sesquiterpènes : longifolène (1-8 %)
- Tétraterpènes : β -carotène [68]
- Phénols : thymol, carvacrol (5,8-12 %)
- Saponines : **α -hédérine**⁶ [78]
- Alcaloïdes : nigellidine et son dérivé 4-O-sulfite⁷[79], nigecilline, nigellimine et son dérivé N-oxyde, dopamine

La composition en monoterpènes change durant la maturation de la graine. Le γ -terpinène et l' α -thujène sont les composés monoterpéniques majoritaires accumulés dans les graines immatures. Ils sont graduellement remplacés dans la p-cymène, le carvacrol, la thymohydroquinone et la thymoquinone lors du développement de la graine. Ces composés, de la même façon que les alcaloïdes indazolés (nigellidine et nigellicine) sont presque exclusivement accumulés dans les téguments. En contraste, les acides organiques et aminés sont d'abord accumulés dans les tissus intérieurs de la graine. Les sucres et polyalcools comme la dopamine (catécholamine) et la saponine α -hédérine sont accumulés dans les téguments et dans les tissus intérieurs en différentes proportions. [80]

Les graines de *N. sativa* contiennent des taux appréciables de nutriments pouvant être une source bénéfique pour la santé si elles sont consommées régulièrement. L'impact du sol et des conditions climatiques sur la composition des graines sont des sujets à étudier à l'avenir afin de pouvoir déterminer les différents chimiotypes de l'huile essentielle. [2]

⁶ **L' α -hédérine** est une saponine triterpénique monodesmosidique précédemment retrouvée dans les feuilles de *Hedera helix* (Lierre) d'où elle tient le nom.

⁷ **La nigellidine-4-O-sulfite** est le premier alcaloïde de type indazole sulfaté naturel découvert.

Sommaire des composés retrouvés dans l'huile de *N. sativa* : son Totum

HUILE VEGETALE						
Lipides simples	Acide gras libres saturés	Acide laurique C ₁₂	Acide myristique C ₁₄	Acide palmitique C ₁₆	Acide margarique C ₁₇	Acide stéarique C ₁₈
		Acide arachidique C ₂₀	Acide béhénique C ₂₂	Acide lignocérique C ₂₄		
	Acide gras libres insaturés	Acide myristoléique C _{14:1}	Acide palmitoléique C _{16:1}	Acide marganoléique C _{17:1}	Acide oléique C _{18:1}	Acide linoléique C _{18:2}
		Acide linoléique C _{18:3}	Acide eicosanoïque C _{20:1}	Acide eicosadiénoïque C _{20:2}	Acide érucique C _{22:1}	
	Glycérides	Monoacylglycérols	Diacylglycérols	Triacylglycérols (> 20 composés)		
	Stérols	β-Sitostérol	5-Stigmastérol	Isofucostérol	Campesterol	TMS 484
		Δ7-Stigmastérol	Δ7-Avémostérol	Cholestérol	β-Sitostanol	Δ5-Avenastérol
		Lanostérol	Stigma-5,22-dien-3-beta-D-glucopyranoside	24-méthyllophénol	Cycloeucalénol	Gramistérol
		Obtusifoliol	Citrostadéniol	Lophénol	4-éthyllophénol	4-éthyllophénol
		24-méthylèncycloartanol	Cycloartérol	β-amyrine	Butyrospermol	Taraxérol
Tirucallol						
Stanol	cycloart-23-méthyl-7,20, 22-triène-3 β,25-diol [78]	cycloart-2,3-méthyl-7,20-triène-3β30-diol	cycloart-3-one-7,22-diène-24-ol	Campéstanol	Stigmastanol	
Tocophérols	α-tocophérol	β-tocophérol	γ-tocophérol	δ-tocophérol		
Lipides complexes	Glycolipides	Digalactosyldiacylglycérol	Cérébroside	Monogalactosyldiacylglycérol	Stéryl glucoside	Stéryl glucoside estérifié
		Sulfoquinovosyldiacylglycérol				
	Glycérophospholipides	Phosphatidylcholine	Phosphatidyléthanolamine	Phosphatidylsérine	Phosphatidylinositol	Phosphatidylglycérol
<i>lyso</i> -phosphatidyléthanolamine		<i>lyso</i> -phosphatidylcholamine				
Glucides	Oses	Arabinose	Xylose	Lyxose	Glucose	
	Oligo-saccharides	Maltose	Saccharose	Raffinose	Galactinol	
Protides	Acides aminés	Lysine	Leucine	Isoleucine	Valine	Glycine
		Alanine	Phénylalanine	Cystine	Acide glutamique	Acide aspartique
		Proline	Histidine	Méthionine	Arginine	Sérine
		Thréonine	Tryptophane	Tyrosine		
Enzymes	Lipase					
Minéraux	Potassium	Calcium	Magnésium	Phosphore	Sodium	
	Fer	Zinc	Manganèse	Cuivre	Sélénium	
Vitamines	Rétinol (vitamine A)	Thiamine (vitamine B1)	Riboflavine (vitamine B2)	Niacine (vitamine B3)	Pyridoxine (vitamine B6)	
	Acide folique (vitamine B9)	Acide ascorbique (vitamine C)	Tocophérols (vitamine E)			

Tableau 9 - Composés retrouvés dans l'huile végétale de *N. sativa*

HUILE ESSENTIELLE					
Terpènes	Monoterpènes	p-cymène	p-cymène-8-ol	Thymoquinone	Thymohydroquinone
		Dithymoquinone	α -terpinène	γ -terpinène	α -thujène
		Carvacrol	Carvone	Carvène (= d-limonène)	α -pinène
		β -pinène	Thymol	Sabinène	Terpinolène
		Eucalyptol (= 1,8-cinéole)	Acétate de myrtényle	α -phellandrène	β - phellandrène
		γ -himachalène	Linalool	Terpinéol	4-terpinéol
		β -myrcène	Camphène	Oxydo-himachalène	(E)- β -ocimène
		Bornéol	(E)-patchéol	(Z)- β -ocimène	Trans-sabinène hydrate
		Cys--sabinène hydrate	Trans-sabinène hydrate acétate	Néral (= Citral B)	β -thujone
		Dihydrotagétone	Myrtéol	Fenchone	trans verbéol
	p-mentha-1,5-diène-8-ol	α -cubénène			
	Sesquiterpènes	Longifolène	α -cadinène	γ -cadinène	γ -muurolène
		(E)-caryophellène	(Z)-caryophellène	14-hydroxy-9-épi-(E)-carophyllène	(E)-nérolidol (= péruviol)
		α -duprézianène	β -patchoulène	γ -patchoulène	α -copaène
		(Z)- β -farnésène	Cadalène	(Z,Z)-farnésol	10-epi- γ -Eudesmol
		α -Eudesmol	β -Eudesmol	α -longipinène	α -sélinène
		β - sélinène	β -Bourbonène	β -Elèmène	germacrène A
		7-épi-sélinène	α -ylangène	β -ylangène	widdrol
	cis- α -bergamotène	β -panasinsène	épizonarène		
	Triterpènes	cycloart-2,3-méthyl-7,20-triène-3 β 30-diol	cycloart-3-one-7,22-diène-24-ol		
Tétraterpènes	β -carotène				
Saponines	α -hédérine			mélianthine	
	3-O-[[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl]-hédéragénine				
	3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl]-hédéragénine				
	3-O-[[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragénine				
	3-O-[[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl]-11-methoxy-16-hydroxy-17-acetoxy hédéragénine				
	3-O-[[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragénine				
	3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragénine				
Alcaloïdes	Indazolés	Nigellidine	Nigellidine 4-O-sulfite	Nigellicine	
	Isoquinoline	Nigellimine	Nigellimine N-oxyde		
	Amino-alcaloïdes	Dopamine			
	Terpinoïdes	Nigellamine A1	Nigellamine A2	Nigellamine A3	Nigellamine A4
		Nigellamine A5	Nigellamine B1	Nigellamine C	
Flavonoïdes	Quercétine 3-O- β -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- β -galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- β -glucopyranoside				
	Kaempférol 3-O- β -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- β -galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- β -glucopyranoside				
	Quercétine 3-O-(6-féruoyl- β -glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-O- β -galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- β -glucopyranoside				
	Kaempférol 3-O- [[β -D-glucosyl- (1 \rightarrow 2) -O- β -D-glucosyl (1 \rightarrow 2)]glucoside				
	Quercétine 3-glucoside	Kaempférol 3-glucoside	Rutine = Quercétine 3-rutinoside	Flavone	
	Amentoflavone	Apigénine			

Non classés	1-octanol	2-octanol	n-octanol	n-nonanol
	2-phénylpropanal	n-nonanal	n-décanal	2-(Z)-nonène-1-al
	n-nonane	n-décane	diméthylionène	α -calacorène
	silphiperforl-4,7(14)-diène	cis-muuro-la-3,5-diène	α -néo-clovène	thuja-2,4(10)diène
	C4H9-S-S-C2H5	C4H9-S-S-C3H7 I	C4H9-S-S-C4H9 I	C3H7-S-S-C3H7 II
	C4H9-S-S-C3H7 II	C4H9-S-S-C4H9 II	hexanal	2-hepténal
	cuminal	garnial	γ -terpin-7-al	p-anisaldéhyde
	alpha-campholénal	alpha-campholénal	2-dodécenal	n-tétradécane
	n-hexadécane	4-isopropyl-9-methoxy-1-méthyl-1cyclohexene	3-méthyl nonane	1-méthyl-3-propylbenzène
	1-éthyl-2,3-diméthyl benzène	1,3,5-triméthyl benzène	silphiperforl-4,7(14)-diène	cis-muuro-la-3,5-diène
	α -néo-clovène	heptèn-2-one	2-undécane	p-méthyl acétophénone
	4-hydroxy-4-méthyl-2-cyclohexénone	cis dihydrocarvone	camphre	Carvone
	carvotanacétone	tridécane	artémisia cétone	géranyl acétone
	trans-anéthole	(E)-anéthole	méthyl eugénol	1,8-p-menthadiène-4-ol
	apiole	dill-apiole	caryophyllényl alcool	myristicine
	β -acorediéniol	acétate du cis-verbényle	acétate du (Z)-3-hexénol	acétate du 2-(E)-heptényle
	ester éthylique de l'acide hexanoïque	ester éthylique de l'acide octanoïque	ester éthylique de l'acide nonanoïque	ester éthylique de l'acide décanoïque
	ester éthylique de l'acide dodécanoïque	ester éthylique de l'acide tétradécanoïque	ester éthylique de l'acide pentadécanoïque	ester méthylique de l'acide hexadécanoïque
	ester éthylique de l'acide hexadécanoïque	ester éthylique de l'acide hexadécanoïque	ester éthylique de l'acide heptadécanoïque	ester méthylique de l'acide oléique
	ester méthylique de l'acide octadécanoïque	ester éthylique de l'acide linoléique	ester éthylique de l'acide linoléique	ester méthylique de l'acide linoléique
	ester éthylique de l'acide oléique	ester éthylique de l'acide octadécanoïque	acétate d'isobornyle	acétate de 4-terpinényle
	isopentyl n-butyrat	acide <i>parahydroxybenzoïque</i>	acide rallique	acide chlorogénique
	acide hexadécanoïque	l'acide vanillique	l'acide <i>para</i> -coumarique	l'acide férulique
	l'acide <i>trans</i> -2-hydroxycinnamique	l'acide <i>trans</i> -hydroxycinnamique	épicatechine	catéchine

Tableau 10- Composés retrouvés dans l'huile essentielle de *N. sativa*

III. Propriétés physico-chimiques de l'huile de *Nigella sativa*

Nous reprenons ici principalement les résultats de l'équipe d'Atta qui s'est attardée à comparer les caractéristiques physico-chimiques de l'huile de nigelle en comparant deux types d'extraction : à froid et par solvant. A la suite de cela, l'équipe compare ses données à celles déjà existantes dans la littérature. [54-55]

Point de fusion

Il est plus élevé lors de l'extraction à froid (-1,7 °C) que par l'extraction par solvant (-3,3 °C).

Couleur

Extraite à froid, l'huile possède une couleur jaune dorée tandis que si elle est extraite par solvant elle tend alors vers le brun-jaune. Cela peut être expliqué par la capacité des solvants organiques à extraire une plus grande quantité de pigments liposolubles et des oléorésines présentes dans la graine de nigelle.

Une coloration jaune indique la présence d'une plus grande quantité de pigments jaunes (caroténoïdes) dont nous avons déjà évoqué l'existence.

Contenu en chlorophylle

C'est un paramètre important car il est en corrélation avec la couleur de l'huile qui est un attribut de base pour évaluer la qualité de celle-ci. Son taux a été calculé à 2,26 ppm et à 6,04 ppm dans l'étude de deux variétés d'espèces de *N. sativa*.

Absorption UV

L'huile est capable d'absorber en dehors du spectre du visible, ainsi elle absorbe dans l'UV-C (100-290 nm), l'UV-B (290-320 nm) et dans l'UV-A (320-420 nm). De ce fait, l'huile de nigelle pourrait être utilisée en protection contre les radiations UV avec un facteur de protection solaire (FPS) important. Elle pourrait aussi fournir une protection contre les UV-A qui sont à l'origine de stress oxydants cutanés et contre les UV-B. La transmission optique de l'huile de nigelle, spécialement dans la gamme UV (290-400 nm) est comparable à celle de l'huile de graine de datte, de graine de framboise et à des préparations à base de dioxyde de titane qui peuvent être utilisées comme protection solaire contre les UV-B (FPS) et contre les UV-A.

Densité spécifique

Elle correspond à un ratio de densité d'une substance rapporté à la densité d'une substance de référence (l'eau généralement pour les liquides). Elle a été estimée à 0,911 et à 0,921 pour les extractions à froid et par solvant respectivement. Ces valeurs sont similaires à ce qui avait été rapporté précédemment (0,904 et 0,923).

Indice de réfraction

Celui-ci est similaire aux autres données rapportées. A 20 °C, il est donc de 1,4732 dans l'extraction à froid et de 1,4721 pour l'extraction par solvant.

Indice d'iode

Il correspond à la masse d'iode par gramme consommé par 100 grammes d'une substance chimique. L'indice d'iode permet, notamment, de déterminer le nombre d'insaturation contenu dans des acides gras. En effet, la double liaison entre deux atomes réagit avec les composés iodés. Plus l'indice d'iode est élevé, plus les liaisons des acides gras insaturés sont présentes dans la graisse. Ce nombre est de 115 pour la pression à froid et de 128 pour l'extraction par solvant. Les autres études l'estimaient entre 107 et 129.

Indice de saponification

Ce nombre correspond à la quantité d'hydroxyde de potassium (mg) nécessaire pour saponifier 1 g de graisse. Les longues chaînes d'acide gras ont un petit nombre de saponification car ils ont relativement très peu de fonctions carboxyliques par unité de masse d'acide en comparaison à des petites chaînes d'acides gras.

Il a été évalué à 192 pour l'extraction à froid et à 203 pour l'extraction par solvant.

Contenu en acides gras libres et indice de peroxyde

Ces deux valeurs mesurent la qualité d'une huile. La valeur de peroxyde pour la pression à froid (13,5 meq/kg) et pour l'extraction par solvant (10,7 meq/kg) de l'huile est supérieure à celle rapportée par Salem (7,6 – 10,6 meq/kg) et inférieure à celle rapportée par Attia (14,8 – 18,1 meq/kg).

Teneur en insaponifiable (PMI)

Ce pourcentage dans les huiles végétales permet de les considérer ou non comme antioxydantes naturelles, permettant de minimiser l'oxydation de l'huile durant sa manipulation et son stockage. Pour la pression à froid, il a été estimé à 1 % et à 1,8 % pour l'extraction par solvant. Cette différence s'explique par la technique d'extraction en elle-

même : l'huile extraite par solvant est plus riche en PMI que celle obtenue à froid. En effet, le solvant a une capacité supérieure à extraire des substances associées aux lipides (phospholipides, stérols, vitamines liposolubles, sucres et pigments).

Stabilité oxydative

C'est un paramètre important dans l'évaluation de la qualité des huiles, étant donné qu'il donne une bonne estimation de leur susceptibilité à s'oxyder de façon dégénérative, principale cause de leur altération.

L'étude de Cheikh-Rouhou au test Rancimat sur deux variétés de *N. sativa* (tunisienne et iranienne) établit un temps d'induction d'oxydation de 12 heures pour la première variété et de 50h20 pour la seconde. Cette différence peut être justifiée par la présence d'un plus grand taux d'antioxydants naturels dans l'huile iranienne. En effet, dans son étude, nous notons l'absence de différences notables dans leurs profils respectifs en acides gras.

Il y aurait une corrélation significative au niveau des phénols, du ratio acide oléique / acide linoléique et des tocophérols avec la stabilité de l'huile mesurée par le Rancimat pour l'huile vierge d'olive.

Dans l'étude, l'huile iranienne possédait 309 mg/kg de composés phénoliques tandis que l'huile tunisienne n'en possédait que 245 mg/kg.

La stabilité oxydative de l'huile de nigelle iranienne est supérieure à la plupart des huiles végétales et est comparable à des variétés d'huiles d'olive ou de datte. Dans les mêmes conditions expérimentales, ce temps d'induction d'oxydation est de 7,7 heures pour l'huile de tournesol, de 9 à 143 heures pour l'huile d'olive et de 33 à 45 heures pour l'huile de datte.

Viscosité

La viscosité de l'huile de graine de nigelle est très inférieure à celle de la plupart des huiles végétales.

IV. L'importance des propriétés anti-oxydantes de *Nigella sativa*

A. Le rôle des antioxydants en santé humaine

Toute cette partie A est le résumé d'un article de Saikat Sen et de Raja Chakraborty de novembre 2011. [81]

L'oxygène est un élément indispensable à la vie. La propriété oxydative de celui-ci joue un rôle vital dans une variété de phénomènes biologiques essentiels à la vie, mais aussi peut être à l'origine d'altérations intracellulaires. Dans les cellules, l'oxygène est utilisé pour produire de l'énergie : suite à la production d'ATP par la mitochondrie des radicaux libres sont alors formés. Les espèces activées de l'oxygène (ROS pour *Reactive Oxygen Species*) et les espèces activées de l'azote (RNS pour *Reactive Nitrogen Species*) sont les produits résultants de processus cellulaires d'oxydoréduction. La balance étroite entre ces deux effets opposés est un aspect clé de la vie. A des faibles niveaux ou de façon modérée, ces espèces activées exercent des effets bénéfiques sur la signalisation redox cellulaire et sur la fonction immunitaire ; mais à des concentrations élevées elles produisent le stress oxydatif, un processus nuisible qui peut endommager certaines fonctions et structures cellulaires.

Les antioxydants sont une défense contre ces dommages provoqués, ils sont ainsi essentiels pour le maintien de la santé et du bien-être. Ils sont associés à une réduction de la production de radicaux libres et améliorent l'état général des patients. Ainsi, d'une certaine manière, ils peuvent être un avantage dans l'optique du rétablissement d'une fonction altérée ainsi que dans le traitement et la prévention de maladies.

1. Le concept biologique de radical libre ou d'espèce active

Dans les conditions physiologiques, la génération d'espèces activées est étroitement régulée par différents antioxydants (enzymatiques ou non). La surproduction de ROS résulte comme précédemment expliqué en un stress oxydatif, médiateur d'altérations dans les structures cellulaires (lipides, membranes, protéines et ADN).

a) *Les radicaux libres et leurs sources*

Les radicaux libres sont des molécules ou des fragments de molécules contenant un ou plusieurs électrons non appariés dans leur orbite externe. Ces types d'électrons sont instables

et leur donnent généralement un degré significatif de réactivité. Les ROS incluent les radicaux superoxydes ($O_2^{\cdot -}$), hydroxyles ($\cdot OH$), peroxydes (ROO^{\cdot}), lipide peroxydes (LOO^{\cdot}), alkoxydes (RO^{\cdot}). Les RNS incluent l'oxyde nitrique (NO^{\cdot}) et le dioxyde d'azote (NO_2^{\cdot}). Ces radicaux libres peuvent être facilement convertis en d'autres espèces réactives aussi dangereuses pour la santé.

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'ozone (O_3), l'oxygène singulet (1O_2), l'acide hypochloreux ($HOCl$), l'acide nitrique (HNO_2), le peroxyde nitrite ($ONOO^-$), le trioxyde d'azote (N_2O_3), le lipide peroxyde ($LOOH$) ne sont pas des radicaux libres à proprement parlé mais sont généralement nommés oxydants et peuvent facilement mener à des réactions de radicaux libres chez les organismes vivants. Ainsi, les ROS et les RNS incluent des espèces radicalaires et non-radicalaires libres. Ces espèces réactives sont produites chez les animaux et chez les humains dans des conditions physiologiques et pathologiques.

Au niveau endogène, les radicaux libres sont générés par :

- Le système immunitaire : macrophages et neutrophiles en réponse à des pathogènes.
- Un procédé métabolique (acide arachidonique, plaquettes, macrophages, cellules musculaires lisses) : la peroxydation des lipides est une importante source de radicaux libres à partir de sources différentes (oxydase des cytochromes mitochondriaux, xanthine oxydase, neutrophiles). La mitochondrie produit de façon continue et en abondance des ROS en tant que déchets toxiques suivant plusieurs processus métaboliques, dont chacun peut produire des espèces différentes.
- L'inflammation : libération de cytokines et lors de l'initiation des neutrophiles.
- Le stress et la dégradation de certaines hormones (cortisol) impliquées dans le stress.

Au niveau exogène :

- Pollution : de l'air (amiante, benzène, monoxyde de carbone, chlore, formaldéhyde, ozone, toluène), de solvants chimiques (produits de nettoyage, glue, peinture, diluants pour peintures, parfums, pesticides), de l'eau (chloroforme)...
- Radiation : rayons UV, rayons X médicaux et dentaires, rayons γ , micro-ondes
- Consommation alimentaire : nourriture d'origine animale, barbecue, fritures, grillades, alcool, ...
- Toxines et médicaments : tétrachlorure de carbone, paraquat, benzopyrènes, colorants anilines, toluène, adriamycine, bléomycine, mitomycine C, nitrofurantoïnes, chlorpromazine...

- Autres : fumée d'échappement de véhicule, fumée de tabac...

b) Rôle biologique des radicaux libres

Les ROS et RNS ont un effet bénéfique à des concentrations faibles et modérées et concernent quelques fonctions physiologiques et réponses cellulaires. La majorité des cellules peuvent produire des anions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène ou encore de l'oxyde nitrique de façon constitutive alors que d'autres cellules ont un système de libération de ROS/RNS inductible (défense contre un agent infectieux par phagocytose, destruction d'une cellule cancéreuse par des macrophages...).

Les radicaux libres jouent aussi un rôle important dans différentes voies de signalisation cellulaire comme pour l'activation de plusieurs cytokines et de facteurs de croissance, ou encore la libération de calcium intracellulaire.

Les ROS exercent aussi des actions vitales dans la transcription des gènes ou encore la régulation de l'activité de la guanylate cyclase soluble dans les cellules.

Le NO produit par les cellules endothéliales est essentiel pour la régulation de la pression sanguine dans les vaisseaux des muscles lisses, dans l'adhésion des leucocytes, dans l'agrégation des plaquettes ou encore dans l'angiogenèse. De plus, le NO produit par les neurones est un important neurotransmetteur. Celui produit par les macrophages est quant à lui un médiateur de la réponse immune.

c) Les piègeurs de radicaux libres

La balance des concentrations de radicaux libres est déterminée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination. Ainsi, l'état redox de la cellule et sa variation détermine le fonctionnement de cette dernière. Pour les protéger ainsi que les organes du corps contre ces radicaux libres, il existe chez l'homme un système de détoxification sophistiqué. Un antioxydant est défini comme une substance, qui, à faible concentration peut inhiber ou retarder significativement un processus oxydatif, tout en étant souvent lui-même oxydé. Nous pouvons classer les antioxydants selon leur nature, selon leur origine ou encore selon leur mécanisme d'action (tab. 6) :

CLASSIFICATION SELON LEUR NATURE
Antioxydants enzymatiques : Superoxyde Dismutase (SOD) – Catalase (CAT) – Glutathion Peroxydase (GPx) – Glutathion Réductase (GR)
Antioxydants non-enzymatiques : <i>Métabolites</i> : Glutathion réduit (GSH) – Acide lipoïde – L-Arginine – Coenzyme Q ₁₀ – Mélatonine – Acide urique – Bilirubine – Protéines chélatrices de métaux – Transferrine... <i>Nutriments</i> : Vitamine E – Vitamine C – Caroténoïdes – Eléments (Sélénium, Manganèse, Zinc) – Flavonoïdes – Acides gras Oméga-3 et Oméga-6...
CLASSIFICATION SELON LEUR ORIGINE
Antioxydants endogènes : Bilirubine – Glutathion – Acide lipoïque – N-acétyl cystéine – NADPH et NADH, ubiquinone (coenzyme Q10), acide urique, enzymes (SOD, CAT, GPx, GR)
Antioxydants alimentaires : Vitamine C – Vitamine E – β-Carotène et autres caroténoïdes et oxycaroténoïdes (lycopène et lutéine), Polyphénols (Flavonoïdes, Flavones, Flavonols et Proanthocyanidines)
Protéines transporteuses de métaux : Albumine (cuivre), Céruloplasmine (cuivre), Métallothionéine (cuivre), Ferritine (fer), Myoglobine (fer), Transferrine (fer)
CLASSIFICATION PAR MECANISME D’ACTION
Systèmes catalytiques neutralisant ou détournant les ROS : SOD, CAT, GPx
Liaison/Inactivation des ions métalliques à produire des ROS par la réaction de Haber-Weiss : Ferritine, Catéchines
Auto-suicide et destruction des ROS : Vitamine C, Vitamine E, Acide urique, Glutathion, Flavonoïdes
Extinction des ROS, Piège et Puits chimiques : Caroténoïdes, Anthocyanidines

Tableau 6 – Classifications des antioxydants

Afin de mieux comprendre la suite de l'exposé, il convient de rappeler le mode d'action de certains de ces antioxydants intervenant dans les différentes actions de *N. sativa*.

Les **superoxydes réductases** (SOD) sont des enzymes endogènes pouvant exister sous plusieurs formes. Ce sont des protéines qui contiennent du cuivre et du zinc, ou du manganèse, du fer ou du nickel et qui agissent comme première ligne de défense contre les ROS en piégeant les radicaux superoxydes. SOD catalyse la dismutation de O^{2•-} en H₂O₂ et O₂.

La **catalase** (CAT) est un tétramère de quatre chaînes polypeptidiques et contient quatre groupes hèmes porphyriques qui lui permet de réagir avec le peroxyde d'hydrogène. Chaque

molécule de catalase peut décomposer à chaque seconde des millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène.

La **glutathion peroxydase** (GPx) est présente dans le cytoplasme des cellules et les protège contre des dommages oxydatifs causés par H_2O_2 et prévient la formation du radical hydroxyle à partir de ce dernier. Elle se compose de quatre sous-unités protéiques, dont chacune contient un atome de sélénium sur son site actif. L'enzyme supprime le H_2O_2 en couplant sa réduction en H_2O à l'oxydation du GSH.

La **glutathion réductase** (GR) est une flavoprotéine et un antioxydant cellulaire important nécessaire à la transformation du GSH. Le glutathion oxydé est le glutathion disulfure (GSSG) qui est réduit en GSH par la présence de GR qui utilise le NADPH comme donneur d'électron. Le ratio GSH/GSSG constitue une mesure importante du stress oxydatif dans un organisme. Une forte concentration de GSSG peut endommager de nombreuses enzymes par oxydation.

Le **glutathion** est un tripeptide et un puissant antioxydant très abondant dans le cytosol, le noyau et les mitochondries. Il constitue le principal antioxydant non-enzymatique soluble dans ces compartiments cellulaires. Dans le noyau, il maintient l'état d'oxydo-réduction des protéines sulfhydriles qui sont essentielles pour la réparation et l'expression de l'ADN. Il s'agit du principal composé thiol non protéique intracellulaire synthétisé dans la cellule à partir de la cystéine, de la glycine et du glutamate. Il possède un rôle dans le maintien des groupements $-SH$ dans d'autres molécules (protéines), la régulation du statut de thiol-disulfure de la cellule, et la détoxification des composés étrangers en radicaux libres. Les acides aminés contenant du soufre comme la méthionine et la cystéine sont des précurseurs du GSH, mais aussi leurs groupements $-SH$ peuvent réagir avec H_2O_2 et $\bullet OH$ pour prévenir l'apparition de dommages tissulaires. Le GSH est aussi capable d'éliminer le radical hydroxyle et l'hydrogène singulet directement, ou encore détoxifier le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques par l'action catalytique de la GPx. Il est aussi impliqué dans le transport d'acides aminés à travers la membrane plasmique, la régénération d'une partie importante des antioxydants. Il agit aussi avec les vitamines C et la vitamine E. Par exemple, il peut réduire un radical tocophérol de la vitamine E, directement ou indirectement, par l'intermédiaire de la réduction du semidéhydroascorbate en ascorbate. La figure suivante (fig. 5) présente les différentes voies de synthèse des ROS, des RNS et de la peroxydation lipidique.

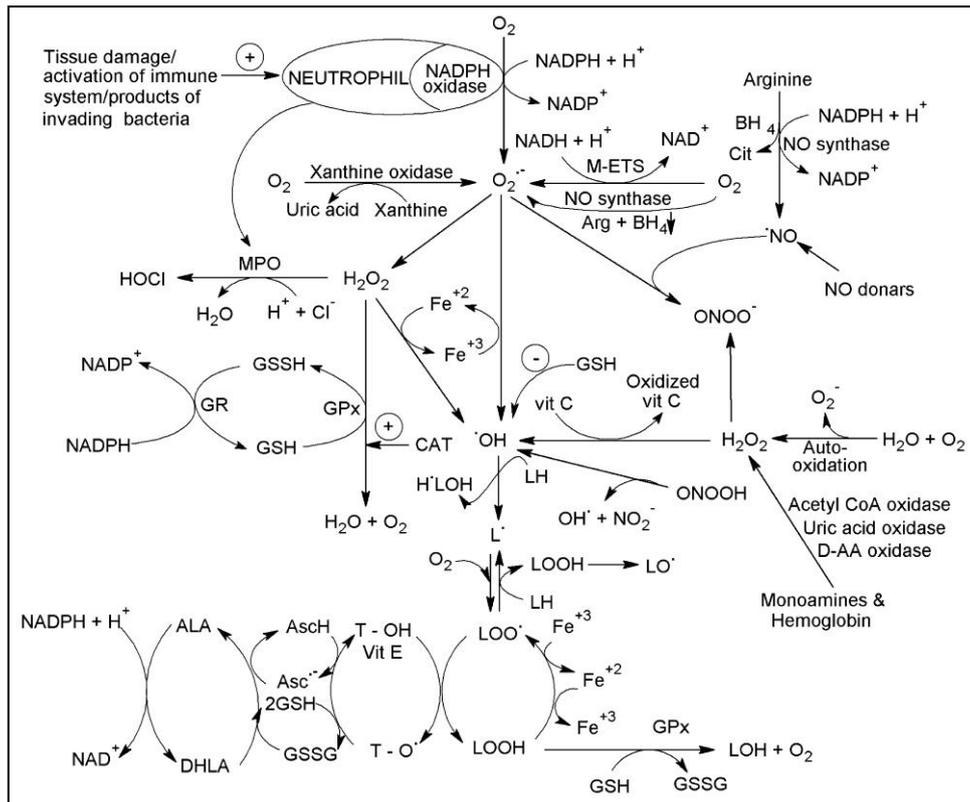


Figure 7 – Voies de signalisation de la formation de ROS, de RNS, du processus de la peroxydation lipidique.

2. Le concept de stress oxydatif et de dommage moléculaire

Les atteintes moléculaires liées aux radicaux libres décrivent le concept de stress oxydatif. C'est une situation nuisible provoquée par l'excès de production de ROS et/ou par une diminution des différents taux d'antioxydants. Ce déplacement prolongé dans la balance pro-oxydant/antioxydant en faveur de ces premiers peut être responsable de dégâts au niveau moléculaire et peut potentiellement conduire à des lésions tissulaires.

Les premières actions dans ce processus oxydatif sont la peroxydation de la membrane lipidique, l'oxydation des protéines puis l'apparition de dommages au niveau de l'ADN. A partir de là, des voies de signalisation peuvent être altérées pouvant aller jusqu'à la destruction de la cellule.

On dénombre un certain nombre de maladies impliquant le stress oxydatif :

- Cancers et tumeurs pouvant être liées à des maladies inflammatoires chroniques (infection à *Helicobacter pylori* ou au virus de l'hépatite B)

- Maladies cardiovasculaires (hyperhomocystéinémie, athérosclérose, ischémie cardiaque, hypertrophie cardiaque, hypertension)
- Désordres neurologiques (maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, sclérose multiple, perte de la mémoire, dépression)
- Désordres pulmonaires (inflammations avec l'asthme et la BPCO)
- Maladies auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde)
- Désordres rénaux (glomérulonéphrite, IRC, protéinurie, urémie)
- Maladies gastro-intestinales (ulcère peptique, maladie inflammatoire de l'intestin, colite)

B. *Nigella sativa*, une plante antioxydante ?

Nous avons vu la grande richesse de composés de l'huile de *N. sativa* précédemment. Certaines de ses molécules sont déjà connues pour posséder des propriétés antioxydantes et d'autres ont été le sujet de plusieurs dizaines d'études validant l'action antioxydante de cette huile.

1. Propriétés antioxydantes reconnues de ses composés

a) *Les acides gras polyinsaturés*

L'ingestion d'oméga-3 chez l'homme permet de remplacer de façon partielle les oméga-6 dans les membranes des cellules. Ces changements de composition membranaire (augmentation de leur déformabilité) sont responsables d'une diminution de la virulence des agents pro-inflammatoires et des niveaux de stress oxydant.[82] Dans les phénomènes d'athérosclérose, la prise d'acides gras insaturés modifie la composition des LDL et en rabaisse les taux circulants. Ainsi, la quantité de LDL qui pénètre dans la paroi des vaisseaux diminue ainsi que leur oxydation.[83]

b) *Les phytostérols*

Plusieurs études ont déjà démontré l'existence de propriétés antioxydantes des phytostérols. Ils sont capables d'augmenter l'activité des enzymes antioxydantes et par conséquent, de réduire le stress oxydant.[84]

c) Le β -carotène et les vitamines C et E

Le β -carotène est un caroténoïde liposoluble considéré comme une provitamine du fait qu'il peut être transformé en vitamine A active (rétinol), essentielle à la vision. C'est un antioxydant puissant et probablement le meilleur agent actif sur l'oxygène singulet. Il offre une protection antioxydante aux tissus riches en acides gras polyinsaturés. [85]

Les vitamines C et E sont d'importants antioxydants non-enzymatiques qui réagissent avec les radicaux libres pour former à leur tour d'autres radicaux qui sont, eux, moins réactifs que les premiers. Ainsi, ils détruisent la chaîne de réactions de formation de radicaux en piégeant notamment les peroxydes.

La vitamine C est essentielle à la synthèse du collagène, de la carnitine et de certains neurotransmetteurs. Elle joue le rôle d'agent réducteur qui réagit avec la vitamine E pour se donner à elle-même un radical lui permettant de régénérer la vitamine E.

La vitamine E est un antioxydant liposoluble clé et l'un des plus efficaces. En effet, il permet de protéger au niveau de la membrane plasmique de la cellule la peroxydation des lipides. Elle est capable de transférer son hydrogène phénolique à un radical libre peroxyde d'un acide gras polyinsaturé (oméga-6) peroxydé et ainsi briser la réaction radicalaire prévenant la peroxydation des AGPI dans les phospholipides membranaires. L' α -tocophérol est la forme la plus active de vitamine E chez l'homme. On le commercialise d'ailleurs dans la spécialité TOCO 500 mg ou encore DERMORELLE 200 mg.

d) Les minéraux

Le sélénium n'est pas un antioxydant en tant que tel mais il participe au processus de défense contre les ROS en ayant le rôle de cofacteur de la glutathion peroxydase.

Le cuivre, le manganèse et le zinc sont quant à eux des cofacteurs de la SOD.

e) Composés de l'huile essentielle

- Les terpènes

Ils font partis d'une grande famille de composés aux structures très variées présents dans la nature. On a montré que les terpènes prodiguaient une protection sous différentes conditions de stress oxydatifs et cela dans différents modèles de maladies touchant le foie, les reins, le système nerveux et cardiovasculaires, des cancers et diabètes ou encore dans le vieillissement.

La preuve de cela vient du grand nombre de publications ces dernières années dans la littérature scientifique. [86] Concernant *N. sativa*, le principal composé terpénique étudié est la thymoquinone dont nous développerons plus en détail ses différentes propriétés.

- Les saponines ou saponosides (terpènes cycliques)

A l'instar des terpènes, il existe plusieurs études démontrant l'existence de propriétés antioxydantes possédées par les saponines.

A titre d'exemple, ici, nous pouvons citer le cas de l' α -hédérine présente dans *N. sativa*. L'existence de plusieurs composés à propriétés antioxydantes au sein de l'huile de *N. sativa* nous pousse à évaluer quels sont les effets de la plante dans la lutte contre le stress oxydatif. De même, la question d'une action synergique de ses différents composés, procurant aux huiles des effets antioxydants, se pose aussi. Plus d'une cinquantaine d'études abordent le sujet et il apparaît que *N. sativa* agit d'une part contre les facteurs pro-oxydants et d'autre part sur les enzymes à propriétés antioxydantes.

2. Actions de *Nigella sativa* sur les facteurs pro-oxydants

a) Protection contre la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique correspond à l'oxydation de lipides insaturés. Lors de ce processus, des radicaux libres sont formés et sont capables de nuire à l'intégrité des cellules jusqu'à provoquer des dommages tissulaires.

Voici un schéma qui en récapitule les conséquences (fig. 6) :

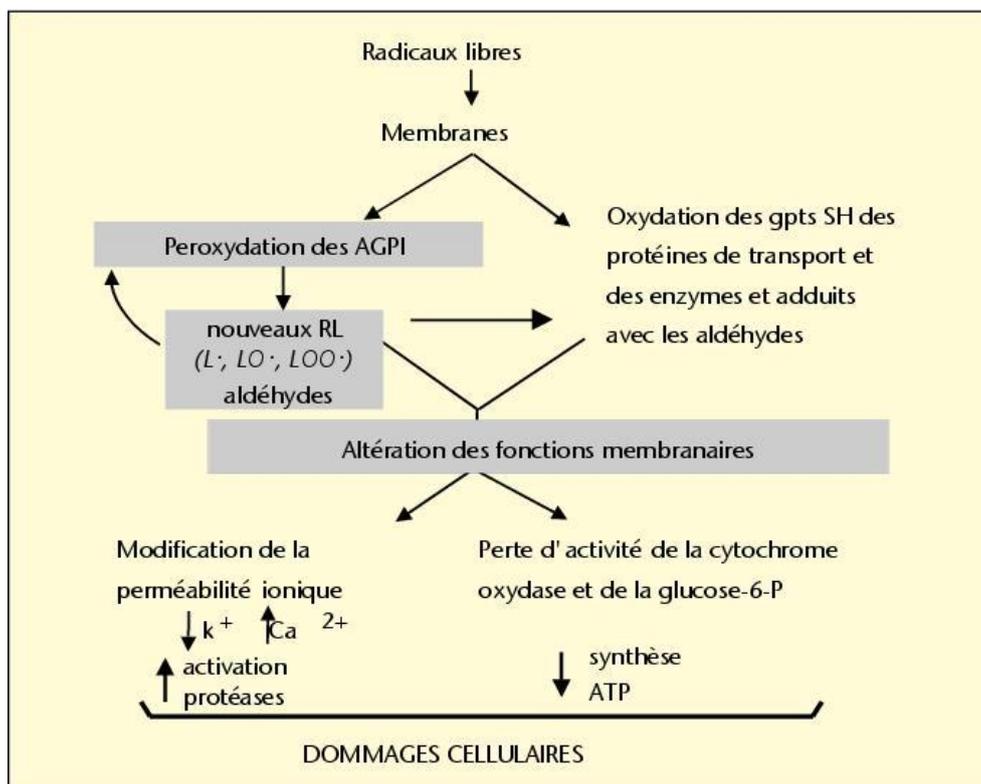


Figure 8 - Conséquences cellulaires de la peroxydation lipidique [87]

L'effet protecteur de *N. sativa* contre ce phénomène oxydant a été mis en évidence dans les années 1990 alors que l'huile végétale et la thymoquinone étaient testées comme possibles inhibiteurs de la voie de synthèse des eicosanoïdes. Il est apparu que les deux produits ont été capables d'inhiber la peroxydation des phospholipides cérébraux au niveau des liposomes, et ce, de façon non-enzymatique. Dans cette étude, la thymoquinone s'est montrée 10 fois plus puissante que l'huile. [88]

Par la suite, plusieurs études ont confirmé cette propriété de l'huile de *N. sativa* ainsi que pour la thymoquinone. Cette dernière s'est montrée apte à provoquer *in vitro* une inhibition de la peroxydation lipidique microsomale fer-dépendante de façon concentration-dépendante. [89] L'huile est aussi capable de protéger *in vitro* les érythrocytes contre ce phénomène ainsi que contre la dégradation lipidique et la perte de déformabilité de celles-ci. [90] *In vivo*, les deux produits diminuent la peroxydation lipidique élevée provoquée par une intoxication chez le rat par le CCl₄ [91-92] et l'ont inhibé sur un modèle de lésion cérébrale par ischémie-reperfusion chez le rat. [93] Dans un modèle de rat diabétique, l'huile essentielle s'est montrée active contre la peroxydation lipidique des cellules β-pancréatiques. [94]

b) Piège à radicaux libres

Lors de l'étude de l'effet de la thymoquinone sur la cardiotoxicité provoquée par la doxorubicine chez des rats, il a été tout d'abord démontré que cet effet indésirable était imputable à la formation de radical superoxyde (O_2^-) à partir de l'anticancéreux. Cette même étude a alors mis en évidence la capacité de la thymoquinone à piéger cet ion de la même manière que la SOD, et cela en utilisant différents systèmes pour la génération du superoxyde. Les valeurs de la CI_{50} de la thymoquinone étaient de l'ordre du micromolaire, indiquant ainsi qu'elle était un bon piègeur de l'ion superoxyde. [95] Dans des modèles de rats hypercholestérolémiques, le traitement par différents dosages de thymoquinone améliore la capacité antioxydante du plasma contre les radicaux hydroxyles ($^{\cdot}OH$) de façon dose-dépendante. [96]

c) Diminution de la production de composés pro-oxydants

En diminuant l'activité de la MPO dans un modèle de lésions gastriques provoquées par l'éthanol, la thymoquinone contribue, de ce fait, à la diminution de formation d'acide hypochloreux HOCl, une molécule pro-oxydante. [97] Il a aussi été montré que la thymoquinone provoque une diminution de l'expression des gènes et de la synthèse des protéines d'iNOS⁸ dans les surnageants de macrophages après une stimulation par le lipopolysaccharide (LPS), et cela de façon dose et temps-dépendant et sans affecter la viabilité des cellules. [98] C'est ainsi que dans des modèles animaux, on peut observer une diminution sérique et tissulaire du taux de NO [99] et des autres marqueurs du stress oxydatif (le malondyaldéhyde MDA, le chlorochromate de pyridinium PCC) [100-103].

d) Protection des cellules et des atteintes tissulaires

Au cours des différentes études entreprises pour mettre en avant les propriétés antioxydantes, il a été montré que soit l'huile végétale de *N. sativa*, soit la thymoquinone préservait les structures cellulaires intactes, et ce, dans différents types de tissus (globules rouges, fibroblastes, tissu intestinal, musculaire, hépatique, cérébral...). [97, 99-100, 102, 104-109]

⁸ **iNOS** : isoforme inductible de l'enzyme *Nitric Oxide Synthase* catalysant la production d'oxyde nitrique (NO) à partir du L-arginine. Elle est impliquée dans la réponse immunitaire, la liaison à la calmoduline et dans la production de radicaux libres NO comme mécanisme de défense immunitaire.

3. Actions de *Nigella sativa* sur les enzymes antioxydantes

a) *Surrégulation de l'expression des gènes codant pour des enzymes antioxydantes*

Dans le modèle de rat hypercholestérolémique préalablement cité, la thymoquinone provoque une surexpression des gènes *sod1*, *cat* et *gpx2* codant pour les principales enzymes antioxydantes. Cette mise en évidence fut démontrée par l'augmentation d'expression des ARNm hépatiques des rats traités par la thymoquinone à la différence de ceux non traités. [96]

b) *Augmentation de la production d'enzymes et de facteurs antioxydants*

Plusieurs travaux menés *in vitro* et *in vivo* montrent que l'huile essentielle de *N. sativa* et ses composés améliorent les capacités antioxydantes, soit par l'augmentation de l'activité des différentes enzymes (SOD, CAT, GPx) au niveau sérique et/ou tissulaire, ou encore des molécules antioxydantes (GSH). [92-93, 96, 100-102, 108, 110]

4. Hypothèses sur le mécanisme d'action antioxydant de la thymoquinone

Une des premières hypothèses proposées quant aux effets antioxydants de l'extrait de l'huile de *N. sativa* est tout simplement le fait de l'action synergique de ses différents composés antioxydants préalablement cités.[101] Une équipe s'est penchée plus particulièrement sur le mécanisme d'action de la thymoquinone. Dans leur étude, il est montré que la thymoquinone réagissait avec le GSH, le NADH et le NADPH. En effet, cette réaction qui se produit dans des conditions physiologiques indique la formation de deux sous-produits : la glutathionyl-dihydrothymoquinone qui se forme rapidement après la réaction avec le GSH et la dihydrothymoquinone (DHTQ) qui se forme en réagissant avec le NADH et le NADPH. La mesure de l'activité antioxydante de ces deux composés réduits sur des radicaux organiques (ABTS et DPPH) révèle également un potentiel intéressant de piègeur de radicaux libres. Dans les mêmes conditions, la thymoquinone seule présente une activité antioxydante moins importante que ces deux nouveaux composés. De plus, nous pouvons rajouter que les deux molécules montrent une activité antioxydante équivalente au Trolox⁹.

⁹ **Trolox** : il s'agit d'un dérivé soluble de la vitamine E qui est utilisé en pratique pour réduire le stress oxydatif. Le *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* (TEAC) est une mesure de la puissance antioxydante basée sur le Trolox.

Ces résultats indiquent une possible activation métabolique non enzymatique intracellulaire de la thymoquinone sous la dépendance du GSH, du NADH ou du NADPH qui pourrait représenter une étape clé dans la modulation des défenses antioxydantes. D'autres travaux sont donc nécessaires pour essayer d'élucider le mécanisme d'action complet de la thymoquinone. [111]

V. Propriétés thérapeutiques de *Nigella sativa*

A. Propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques

L'inflammation est une réaction immunitaire non spécifique en réponse à une blessure ou à une infection. Bien qu'elle soit limitée dans des conditions normales, la réaction inflammatoire peut échapper au contrôle dans certaines conditions, conduisant ainsi à des maladies chroniques inflammatoires. La persistance de ces états d'inflammation se fait par l'intermédiaire d'un certain nombre de médiateurs (eicosanoïdes, stress oxydatif, cytokines, enzymes lytiques sécrétées par les macrophages et les polynucléaires neutrophiles...). Deux enzymes importantes interviennent aussi dans ce processus inflammatoire : la cyclo-oxygénase (COX) et la lipo-oxygénase (LO). La COX est responsable de la synthèse des prostaglandines (PGEs) et du thromboxane à partir de l'acide arachidonique, alors que la LO catalyse la formation de leukotriènes (LTs). Ces deux derniers sont à la fois les médiateurs principaux de l'allergie et de l'inflammation.

D'un point de vue biologique, l'inflammation aiguë (fig. 7) évolue sur trois phases :

- La phase vasculaire où se déroule une vasoconstriction locale rapidement suivie d'une vasodilatation. La margination des leucocytes apparaît ensuite (adhésion aux cellules endothéliales puis diapédèse).
- La phase cellulaire qui correspond à un afflux extravasculaire de leucocytes (polynucléaires neutrophiles puis macrophages). Il s'y produit des phagocytoses et libération d'enzymes permettant la destruction de l'agent pathogène.
- La phase de résolution avec notamment l'apoptose des polynucléaires.

L'inflammation chronique est un échec de l'inflammation aiguë qui persiste dans le temps. Ici, les phases vasculaires et cellulaires sont constantes. De même, les macrophages et d'autres cellules du système immunitaire (lymphocytes, plasmocytes) jouent un rôle plus important. Sa localisation dans plusieurs organes est à l'origine de diverses maladies à composante auto-immunitaire, dont notamment la polyarthrite rhumatoïde.

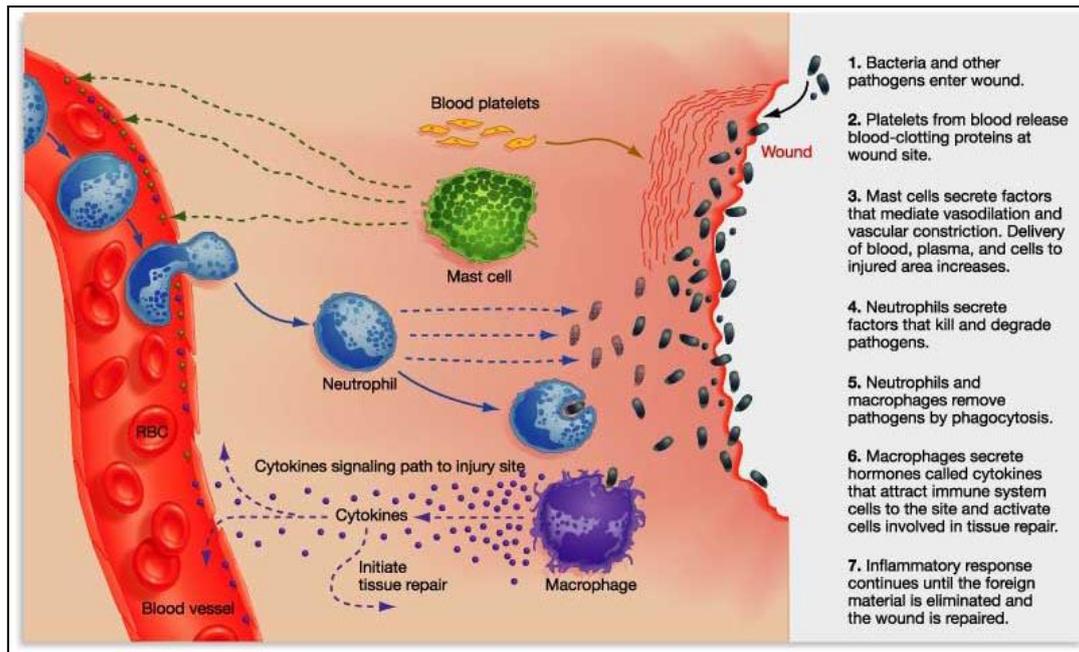


Figure 9 – Le processus inflammatoire

1. Effet anti-inflammatoire de *Nigella sativa* : actions sur les médiateurs cellulaires

a) L'histamine et la sérotonine

Dans les phénomènes d'hypersensibilité et d'inflammation, l'histamine est parmi les médiateurs qui sont libérés lors de la dégranulation des mastocytes. Sa fixation aux récepteurs H1 déclenche une activité vasoactive et aide à la formation d'œdème.

Deux études *in vivo* ont montré des effets de *N. sativa* et de la thymoquinone sur l'inflammation dans cette première phase vasculaire. Chez le cochon d'Inde, la thymoquinone inhibe les effets vasopresseurs de l'histamine et de la sérotonine sur les muscles lisses de la trachée et de l'iléon.[112] Chez le rat, une décoction de plantes contenant *N. sativa* prévient la formation d'œdème au niveau de leurs pattes [113], tandis que dans une autre étude, un extrait de *N. sativa* réduit les réponses inflammatoires pulmonaires avec une diminution de l'infiltration et de l'œdème alvéolaire. [103] La thymoquinone diminue la concentration d'histamine ainsi que l'infiltration des cellules de l'inflammation dans un modèle de souris pour la conjonctivite allergique.[114]

Les différentes hypothèses évoquées à la fin de ces études mettraient en cause une inhibition des produits de la LO, un blocage non-sélectif des récepteurs à l'histamine et à la sérotonine, une inhibition de la production de NO et/ou de la migration leucocytaire.

b) Les eicosanoïdes

La majorité des eicosanoïdes, dérivent de l'oxydation d'acides gras polyinsaturés à 20 atomes de carbone comme l'acide arachidonique. Lors de la synthèse de ces molécules, deux enzymes ont un rôle important : la COX et la LO comme nous l'avons vu en introduction. Ces dernières sont principalement connues pour leur fonction de médiateur de l'inflammation.

L'huile végétale de *N. sativa* et/ou la thymoquinone inhibent *in vitro* de façon dose-dépendante la génération de thromboxane B₂, de LT_{B4}¹⁰ et de LTC₄¹¹. [88, 115-116] *In vivo*, ce sont les productions de PG_{D2}¹² et de PG_{E2}¹³ qui sont inhibées par la thymoquinone en bloquant l'expression de la COX-2 et de COX-1 respectivement. [117-118] En inhibant la 5-LO (*in vitro* et *in vivo*) et la LTC₄ synthase (*in vitro*), la thymoquinone empêche la formation de LT, médiateurs principaux de l'inflammation dans la physiopathologie de l'asthme. [116-117]

L'inhibition des COX et de la 5-LO par les extraits de l'huile de *N. sativa*, la thymoquinone et d'autres produits de l'huile ont été par la suite confirmés dans plusieurs études. [119-121]

c) Les cytokines

Plusieurs études montrent que la thymoquinone a des effets sur la production de cytokines pro-inflammatoires *in vitro* et *in vivo* et ainsi possède une action dans la prévention et le traitement de l'inflammation.

Dans une cette étude sur les cellules PDA (*Pancreatic Ductal Adenocarcinome*), on observe que la thymoquinone réduit de façon dose et temps-dépendante la synthèse en particulier du TNF- α et de l'IL-1 β ¹⁴. L'arrêt total de la synthèse survient au bout de 24 heures.[119] Cette même observation a été faite dans un modèle d'arthrite *in vivo*.[122] Dans une autre étude, la thymoquinone inhibe aussi la production d'IL-5¹⁵ et d'IL-13¹⁶ induite par le LPS dans les cellules RBL-2H3.[123] Et dans d'autres modèles *in vivo*, ce sont les taux d'IL-4¹⁷, d'IL-5 et d'IL-13 qui sont réduits, permettant ainsi une atténuation de l'inflammation des voies

¹⁰ LT_{B4} : produit en surface par les PNN et ayant un rôle chimiotactique puissant vers le site de l'inflammation.

¹¹ LT_{C4} : il s'agit d'un intermédiaire dans la production du LT_{E4}

¹² PG_{D2} : impliquée dans l'inhibition de l'aggrégation plaquettaire et dans la vasodilatation

¹³ PG_{E2} : impliquée dans la vasodilatation et l'hyperalgie

¹⁴ IL-1 β : parmi ses fonctions, l'activation de l'expression de gènes de médiateurs de l'inflammation (phospholipase A2, COX2, NO-synthase...).

¹⁵ IL-5 : produite par les lymphocytes T helper-2 et les mastocytes, elle joue un rôle dans la stimulation des lymphocytes B, la production de PNE et la production d'IgA.

¹⁶ IL-13 : produite par plusieurs types de cellules, elle est un médiateur de l'inflammation allergique.

¹⁷ IL-4 : elle induit la différenciation des lymphocytes T helper naifs (Th0) en cellules Th2.

aériennes causées par un état allergique.[114, 117] Dans un modèle semblable chez le cochon d'Inde, la thymoquinone diminue IL-4 mais augmente aussi l'IFN- γ ¹⁸ prévenant par-là l'inflammation provoquée des poumons. [124]

Parmi les fonctions des cytokines, nous retrouvons leur capacité à activer le NF- κ B, un facteur de transcription qui existe sous forme inactive dans le cytosol. En effet, il y est lié à la protéine I- κ B qui va empêcher son activité. Cependant, plusieurs stimuli physiologiques (cytokines, radicaux libres) ou non (rayons UV) peuvent lever cette inhibition à la suite de la phosphorylation d'I- κ B par IKK (I- κ B kinase) qui va libérer le NF- κ B. Une fois libre, ce dernier peut pénétrer dans le noyau et se fixer sur l'ADN pour activer la transcription de gènes codant des protéines impliquées dans la régulation de la réponse immune, de l'inflammation ou encore de la prolifération cellulaire. Ces différents processus induits par le NF- κ B interviennent notamment dans les états d'inflammation. Tout ce mécanisme est illustré dans le schéma suivant (fig. 8) [125]

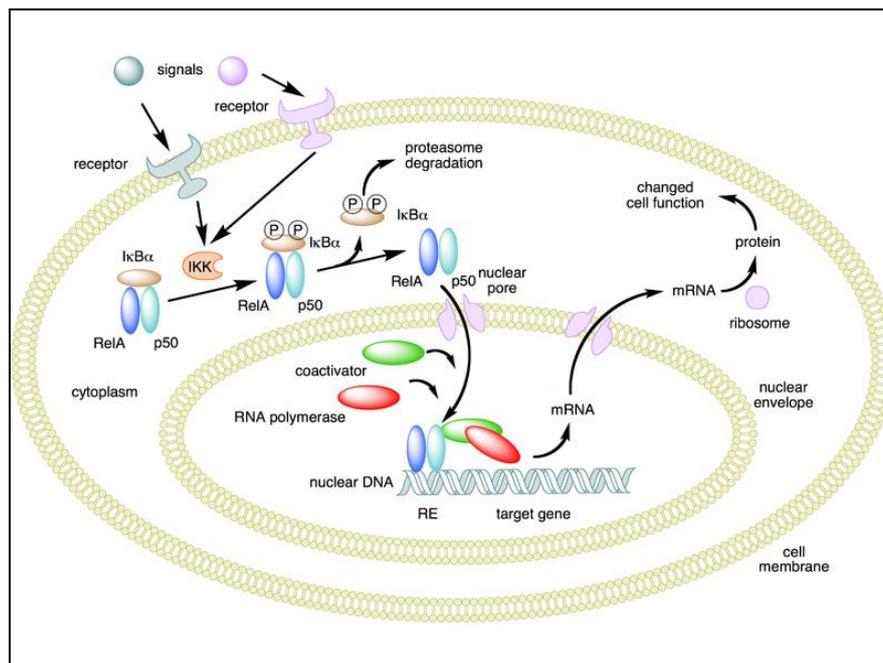


Figure 10 - Mécanisme d'action du NF- κ B

Il se trouve que l'activation du NF- κ B est inhibée par la thymoquinone, soit par une sous-régulation du TNF- α , soit par son action sur différentes voies de signalisation intracellulaire comme celle de TLR-4 (*Toll Like Receptor-4*).

¹⁸ **IFN- γ** : cytokine très importante pour l'immunité puisque c'est l'un des importants activateurs des macrophages et inducteur de l'expression du CMH de classe II.

NF- κ B / TNF- α

La thymoquinone prévient l'activation du NF- κ B par l'inhibition de la phosphorylation induite par le TNF- α d'I κ B α suivie de sa dégradation. [126] De plus, la thymoquinone empêche aussi la translocation du NF- κ B du cytoplasme au noyau.[119, 126-127] Deux études divergent cependant sur les sous-unités composant le NF- κ B qui sont impliquées. [128] La première suggère une phosphorylation de la sous unité p65 du NF- κ B [126] alors que la seconde étudie un effet de la thymoquinone sur la sous-unité p50.

NF- κ B /TLR-4

Lorsque les macrophages sont activés, ils libèrent des cytokines au niveau du site inflammatoire. Ils sont aussi impliqués dans la progression de l'inflammation aiguë vers l'inflammation chronique. Les TLRs reconnaissent des modèles spécifiques de composants microbiens et régulent l'activation de l'immunité innée et adaptative. Le TLR-4 est le récepteur au LPS des monocytes/macrophages. Quand il s'y fixe, une cascade de signalisation intracellulaire est activée (fig. 9) avec le recrutement de diverses kinases (MyD88, IRAK-1 et IRAK-4) au niveau de la membrane pour former un complexe transitoire. Une fois relâchées, les IRAK peuvent s'associer à TRAF-6¹⁹ et l'activer ce qui provoque l'activation du complexe IKK et des MAPKinases qui sont connus pour être impliqués dans la régulation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Le complexe IKK activé va alors phosphoryler I κ B α , causant sa dégradation et la libération de NF- κ B, qui va promouvoir la transcription des cytokines inflammatoires (IL-1, IL-6 et IL-8).

Sur des cellules HSC activées par le LPS, la thymoquinone inhibe les expressions de CD14²⁰ et du TLR-4 ce qui pourrait être la cause en partie de son effet anti-inflammatoire. [129]

Dans une autre étude *in vitro*, la mélanine extraite de *N. sativa* provoque la production d'IL-8 de la même façon que le LPS dans une voie pouvant impliquer le TLR-4.[130]

¹⁹ **TRAF-6** (*TNF Receptor Associated Factor 6*) : il s'agit d'une protéine associée et intervenant dans la transduction du signal à partir de la grande famille de récepteurs au TNF (ex : Toll/IL-1).

²⁰ **CD14** : il s'agit de l'une des trois protéines extracellulaires avec LBP (*LPS-Binding Protein*) et MD2 (*Myeloid Differentiation protein-2*) nécessaire au TLR-4 pour reconnaître le LPS.

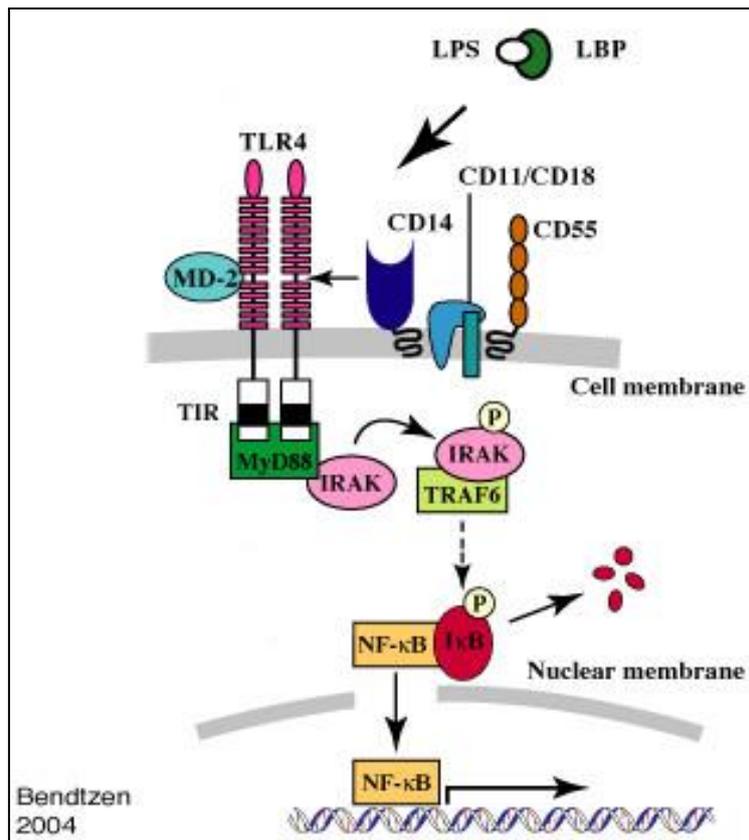


Figure 11 - Voie de signalisation de TLR-4

Les effets bénéfiques résultant de la modulation du NF-κB par la thymoquinone ont aussi été démontrés *in vivo*. Dans un modèle d'encéphalomyélite, l'état inflammatoire a pu être prévenu et amélioré par un traitement à la thymoquinone. Les auteurs soutenaient la possible inhibition de NF-κB comme mécanisme possible de l'effet observé. [131] Dans un modèle d'arthrite rhumatoïde induit par le LPS, le NF-κB était aussi inhibé par la thymoquinone. [132] Dans une dernière étude sur la peau de souris, le prétraitement par la thymoquinone atténuait l'expression de la COX-2 et diminuait la translocation nucléaire et la liaison à l'ADN du NF-κB par le blocage de la phosphorylation et de la dégradation suivie d' I-κBα. De plus, la thymoquinone induit ici, la production de protéines cytoprotectrices comme la NAD(P)H-quinoneoxydoréductase-1²¹, le GST (Glutathion S transférase) et la Glutamate cystéine ligase. [133]

d) Le stress oxydant

L'état inflammatoire, via l'activation des monocytes/macrophages et des neutrophiles et également via la production de médiateurs peut conduire à la production de ROS, toxiques

²¹ Permet la production de NADP⁺ qui est utile dans les mécanismes de protection contre le stress oxydant et les ROS.

pour les cellules et tissus comme nous l'avons vu et ainsi conduire à un stress oxydant. Dans les syndromes inflammatoires, ce stress contribue à l'entretien de l'inflammation.

Les effets antioxydants de *N. sativa* et de la thymoquinone ayant déjà été mentionné, nous nous contenterons de rappeler ici deux études, une *in vitro* et la seconde *in vivo*, mettant en relation les deux phénomènes. Dans des cellules gliales, mises en état d'inflammation par le LPS, différents extraits alcooliques de *N. sativa* permettent de réduire la production de NO qui, en plus d'être une molécule pro-oxydante, favorise la vasodilatation au cours du phénomène inflammatoire. [134] Dans un modèle d'encéphalomyélite auto-immune chez des rats, *N. sativa* inhibe la production de ROS et diminue les taux augmentés de NO cérébraux.[135]

2. Effets antalgiques et antipyrétiques de *Nigella sativa*

Un effet antalgique de *N. sativa* (500 mg/kg) est rapporté au début des années 2000 sans que le mécanisme mis en jeu ne soit élucidé. L'hypothèse évoquée était une diminution des interleukines IL-1 β et IL-8 qui interviennent dans l'algie et dans l'inflammation (libération de PGs). Dans cette étude, l'effet était comparable à celui de l'aspirine (100 mg/kg) sans toutefois avoir d'effet antipyrétique. [136] Dans une autre étude chez l'homme que nous allons exposer dans la partie suivante, la prise de *N. sativa* permet de réduire la douleur chez des patients atteints d'une pharyngite aiguë, diminuant par là leur recours au paracétamol. [137]

3. Etude clinique : traitement de la pharyngo-amygdalite aiguë

Il s'agit d'une inflammation du pharynx ou des amygdales d'origine principalement virale. Une action thérapeutique sur l'inflammation et la réponse immune inadéquate contre le pathogène est de ce fait une nécessité.

Une étude comparative, en parallèle, randomisée en double aveugle avec contrôle placebo pour un traitement de 7 jours a été conduite pour évaluer l'efficacité clinique d'extraits de *N. sativa* et de *Phyllanthus niruri* qui ont montré des effets anti-inflammatoires et immuno-modulateurs.

L'étude a porté sur 186 patients. Les préparations utilisées contenaient 360 mg de *N. sativa* et 50 mg de *P. niruri*. Celles-ci furent administrées par voie orale à la posologie d'une gélule 3 fois par jour pendant 7 jours. A l'heure 5 et l'heure 6 de la première prise, le mal de gorge et la difficulté à la déglutition ont été évalués. Il est apparu que ces sensations furent nettement

réduites dans le groupe recevant le traitement. Avec la réduction de la douleur, ces patients eurent moins recours à la prise de traitement antalgique (comprimés de paracétamol) en comparaison avec le groupe placebo. A la fin du traitement (jour 7), les patients du groupe traité ont vu, dans une proportion significativement plus élevée, leur gorge complètement soulagée. Dans l'ensemble, le traitement s'est trouvé être relativement bien toléré.[137]

4. Action antirhumatismales

Sur des modèles animaux d'arthrites (rats et lapins), la thymoquinone agit sur des voies de signalisation impliquées dans les changements physiopathologiques de l'arthrite rhumatoïde. Elle sous-régule les expressions de MMP-1, MMP-3 et MMP-13 et sur-régule l'expression des inhibiteurs tissulaires des MMP-1. Les MMPs sont des protéases qui modifient la matrice extracellulaire. Dans le cas de l'arthrite, elles dégradent le collagène de type II dans le cartilage, étape clé dans la progression de la maladie. La thymoquinone diminue significativement le *clinical arthritis score* et la résorption osseuse. Elle réduit les niveaux des médiateurs du remodelage osseux (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ et PG_{E2}) et du remodelage osseux (PAL et TRAP). Elle augmente les niveaux d'IL-10. [132, 138] Dans une autre étude, c'est par l'inhibition de l'activation du NF- κ B par l'IL-1 que la thymoquinone agit. [139] L'effet protecteur est aussi mis en évidence du point de vue de l'histologie osseuse.

Une étude chez 40 patientes diagnostiquées montre, qu'après l'utilisation de l'huile végétale de *N. sativa* durant un mois, le DAS-28 (*Disease Activity Score*) est significativement diminué. Aussi, leur qualité de vie est améliorée du fait de la diminution des gonflements articulaires et des raideurs matinales. [140]

Malgré le peu d'études sur le sujet, les résultats apportés laissent entendre qu'une utilisation de *N. sativa* ou de la thymoquinone comme adjuvants thérapeutiques pourrait être abordée dans le traitement de l'arthrite rhumatoïde chez l'homme.

B. Propriétés anti-ostéoporotiques

La cause principale de cette maladie est la ménopause ou le déficit en œstrogènes. A ce jour, *N. sativa* ou la thymoquinone n'ont pas été étudiées sur des modèles animaux d'ostéoporose post-ménopausique. Une étude chez l'homme s'est arrêtée sur les effets de la supplémentation de *N. sativa* sur les marqueurs osseux de femmes en post-ménopause. Une supplémentation durant 3 mois n'a pas réussi à causer de changements significatifs sur les niveaux de ces marqueurs. [141] Les résultats de cette étude ne sont que préliminaires et méritent d'être complétés et validés.

En 2014 une étude fut publiée sur l'effet protecteur de *N. sativa* sur l'ostéoporose produite suite à l'ovariectomie de rates. Quatre semaines avant l'opération et pendant les 8 semaines qui suivirent, ces rates eurent une supplémentation orale de *N. sativa*. Les rates non traitées ont vu apparaître une diminution plasmatique du Ca^{2+} , accompagnée d'augmentations plasmatiques de la phosphatase alcaline, du télopeptide N-terminal du collagène de type 1, du MDA, des nitrates, du TNF- α et de l'IL-6. Du point de vu histologique, l'examen du tibia révèle des érosions discontinues de l'os trabéculaire, des espaces au niveau de la moelle osseuse avec une diminution de l'épaisseur de l'os cortical et de l'os trabéculaire. Toutes ces observations n'apparaissent pas chez les rates traitées. L'effet pourrait être attribué à la teneur de *N. sativa* en acide gras polyinsaturés, ainsi qu'à ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. [142]

a) L'ostéoporose induite par le diabète

Actuellement, *N. sativa* n'a été testée que sur des modèles animaux d'ostéoporose induite par le diabète. En effet, le diabète de type 2 peut se compliquer d'ostéoporose. Il peut affecter l'os par le biais de plusieurs mécanismes comme une insuffisance en insuline, l'insulino-résistance, l'hyperglycémie ou encore l'athérosclérose. L'insuline et les IGF (*Insulin-like Growth Factors*) pourraient être impliqués dans la pathogénèse de la perte osseuse à cause de leurs effets anaboliques. Une étude montre que le traitement combiné par *N. sativa* et de l'hormone parathyroïde est plus efficace que le traitement seul dans l'inversion des changements ostéoporotiques et dans l'amélioration de la force osseuse chez des rats diabétiques. [143] Dans une autre étude utilisant le même modèle, il est montré que *N. sativa* a la capacité d'améliorer l'histologie osseuse.[141] Il se peut que *N. sativa* puisse améliorer le métabolisme osseux du fait de ses propriétés hypoglycémiantes, hyper-insulinémiantes et de

sa capacité à régénérer ou à faire proliférer les cellules β pancréatiques. Des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

b) Rôle antioxydant et anti-inflammatoire de *N. sativa* contre l'ostéoporose

La perte osseuse alvéolaire consécutive à une parodontite (inflammation et infection des ligaments et des os qui soutiennent les dents) est réduite dans une étude chez des rats par des gavages de thymoquinone. Cela fut accompagné d'une réduction du nombre d'ostéoclastes et d'une augmentation de l'activité ostéoblastique. [144]

Les effets antioxydants et anti-inflammatoires de *N. sativa* ou de la thymoquinone sont à l'origine des effets observés. Plusieurs études sont encore nécessaires pour vraiment cerner l'intérêt de cette plante dans le traitement des maladies osseuses.

c) Mécanisme d'action de la thymoquinone vis -à-vis de l'ostéoporose

De ces études, il est démontré plusieurs actions pour la thymoquinone pouvant expliquer ses effets anti-ostéoporotiques (fig. 10).

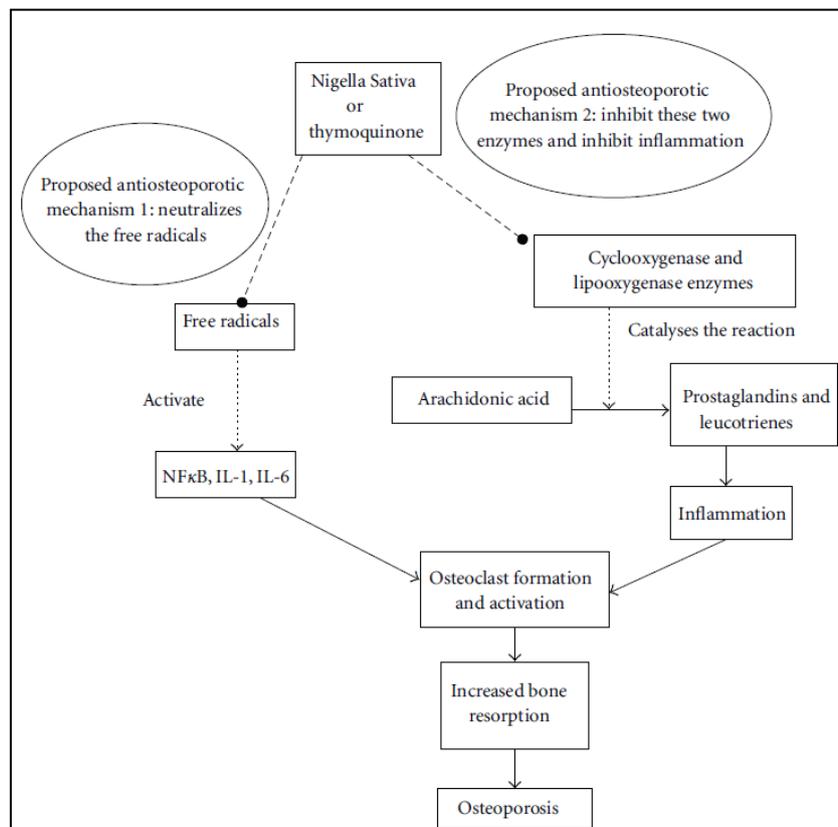


Figure 12 - Mécanismes d'action antiostéoporotiques de *N. sativa* ou de la thymoquinone proposée

d) Effets de la thymoquinone sur la fracture osseuse

A ce jour, aucune étude n'a été entreprise pour évaluer les effets de *N. sativa* ou de la thymoquinone sur l'une des complications de l'ostéoporose, la fracture ostéoporotique. Cependant, les réponses physiologiques pour la guérison de l'os du fémur (non ostéoporotique) à l'administration de thymoquinone ont été évaluées sur des rats. Une différence anatomique est observée dans le groupe expérimental sans différences significatives au niveau des marqueurs biologiques suivis, ni au niveau des organes. La thymoquinone renforcerait la guérison osseuse avec peu ou sans effets sur les organes. [145] Tout dernièrement, il est montré que la thymoquinone accélère la formation osseuse des maxillaires. [146]

C. Propriétés anticancéreuses

Cette partie de l'exposé est principalement basée sur les travaux de Khan[147], Randhawa et Alghamdi [148] et de Woo [149] qui ont fait un regroupement des différents articles publiés en lien avec le cancer.

1. Rôles de *Nigella sativa* en tant qu'agent anticancéreux

L'effet antitumoral de *N. sativa* fut rapporté peut-être pour la première fois par Avicenne qui utilisait la plante pour cette indication, particulièrement pour les masses dures spléniques. De nos jours, l'activité anti-cancéreuse de *N. sativa* fut révélée au milieu des années 1980 quand une amélioration de l'activité des cellules NK de 200 – 300% fut observée chez des patients cancéreux recevant un programme immuno-thérapeutique dont la graine de *N. sativa* fut l'un des composants. Plus tard, les différents effets de *N. sativa* et de ses extraits furent recherchés sur des lignées cellulaires cancéreuses *in vitro* et sur des modèles animaux *in vivo*.

Parmi les composants de *N. sativa*, la thymoquinone est sans conteste la molécule la plus étudiée. Dans le cadre du cancer, il se peut que son activité cytotoxique fut rapportée pour la première fois au début des années 1990 en agissant sur le carcinome ascitique d'Ehrlich²², le lymphome de Dalton²³ et des cellules sarcomateuses 180.[150] Concernant l' α -hédérine, son premier effet anticancéreux *in vitro* rapporté est celui montré par l'équipe de Danloy *et al.* en 1994 en l'extrayant de *Hedera helix* contre les cellules mélanomateuses de souris et sur des fibroblastes non-cancéreux de souris : la molécule a inhibé la prolifération de ces deux lignées cellulaires. [151]

Durant ces dernières années, plusieurs études sont alors menées et les résultats de ces différentes recherches indiquent clairement que les effets bénéfiques de *N. sativa* contre le cancer sont, du moins en partie dus à la thymoquinone et à l' α -hédérine.

2. Mécanismes de l'action anticancéreuse de la thymoquinone et de l' α -hédérine

Les cancers sont des croissances cellulaires anormales provoquées par des altérations génétiques appelées mutations. Ainsi, tout agent protégeant le matériel génétique ou capable

²² *Carcinome d'Ehrlich* : carcinome mammaire de souris.

²³ *Lymphome de Dalton* : lymphome cellulaire T spontané.

d'éliminer ou de provoquer la mort des cellules cancéreuses possède alors une activité anticancéreuse.

En regroupant les principales études sur *N. sativa*, il apparaît que la thymoquinone, principalement, agit sur les cellules cancéreuses par différentes voies de signalisation moléculaires et ainsi participe à l'activité anticancéreuse de la plante.

a) Induction de la mort cellulaire et inhibition de la prolifération

La mort cellulaire serait provoquée par plusieurs mécanismes : arrêt du cycle cellulaire au niveau de l'une ou plusieurs de ses phases, induction pro-apoptotique dépendante et indépendante de p53, suppression de l'activation d'Akt, inhibition de la synthèse d'ADN, action liée au stress oxydatif, ou encore par interaction avec divers composés et voies de signalisation.

(1) Actions sur le cycle cellulaire

Les principales familles de protéines de régulation du cycle cellulaire jouant un rôle clé dans le contrôle de celui-ci et de sa progression sont les cyclines, les Cdk (*Cyclin dependant kinases*), leurs différents substrats, les inhibiteurs des Cdk (CKI) et les produits des gènes suppresseurs de tumeurs, p53²⁴ et pRb²⁵. Par conséquent, les produits pouvant moduler les protéines de régulation du cycle cellulaire sont d'une très grande importance. Les différents sites d'action pour ces produits incluent donc les molécules impliquées dans la phase G₁/S ou G₂/M et les cibler pourrait résulter dans une cytotoxicité sélective et précieuse comme activité anticancéreuse.

Différentes études ont démontré des effets prometteurs pour la thymoquinone en arrêtant la progression du cycle cellulaire dans différents types de cellules tumorales.

En G₀/G₁, elle induit l'arrêt du cycle sur les cellules ostéosarcomateuses COS31, sur les cellules cancéreuses HCT-116 du colon[152], sur la lignée Jurkat de la leucémie lymphoblastique aiguë,[153] et sur les cellules cancéreuses Hep-2 avec l' α -hédérine provoquant alors l'apoptose.[154]

²⁴ **p53** : il s'agit d'un facteur de transcription essentiel à la stabilité cellulaire. Lorsqu'il est activé, il conduit à un arrêt du cycle cellulaire ou à une entrée en apoptose. Dans les cancers, le gène de p53 est souvent muté, ainsi, la protéine perd sa capacité antiproliférative et apoptotique et le développement anarchique de cellules cancéreuses est alors facilité.

²⁵ **pRb** : protéine suppresseuse de tumeur exerçant un contrôle négatif sur le cycle cellulaire en phase G₁ via la séquestration du facteur de transcription E2F.

En G₁/S, elle inhibe la progression du cycle sur les cellules LNCap cancéreuses de prostate.[155] Sur des rats, l'effet est le même pour un carcinome hépatocellulaire induit par le N-nitrosodiéthylamine. [156]

En G₂/M, elle induit l'arrêt du cycle sur les cellules carcinomateuses de souris[157], sur les cellules ostéosarcomateuses humaines MNNG/HOS[158], et pourrait induire l'arrêt du cycle en sur les cellules cancéreuses de sein MCF-7 résistantes à la doxorubicine dans la même phase.[159]

(2) Actions dépendantes et indépendantes de p53

La thymoquinone induit l'apoptose indépendamment de p53 via l'activation des caspases 8, 9 et 3 et la perturbation du potentiel de membrane mitochondrial dans les cellules HL-60. L'apoptose induite par la thymoquinone fut inhibée par un inhibiteur général de caspases (z-VAD-FMK), un inhibiteur spécifique de la caspase 3 (z-DEVD-FMK) et aussi par un inhibiteur spécifique de la caspase 8 (z-IETD-FMK). Cette inversion d'effet confirme alors l'effet apoptotique de la thymoquinone dépendante des caspases dans ces cellules de leucémie. [160] Egalement, sur les cellules Hep-2, la thymoquinone provoque leur apoptose par l'activation de la caspase-3 du fait que le z-DEVD-FMK ait été significativement réduit par la suite.[154] Les implications de la caspase-3 et du TNF- α ont aussi été rapportées dans l'effet anticancéreux de la thymoquinone contre le carcinome mammaire sur un modèle animal.[161]

En outre, la capacité de la thymoquinone à induire l'apoptose sur la lignée cellulaire HepG2 fut déterminée par cytométrie de flux et la mesure des caspases-3 et -9 : l'augmentation de leurs activités est alors observée ainsi qu'un arrêt du cycle cellulaire en G₁/S. [162] Sur cette même lignée, une décoction *N. sativa*, *S. glabra* et *H. indicus*, de façon temps et dose dépendant, sur-régule le gène Bax²⁶ et sous-régule l'expression du gène Bcl-2²⁷. De même que la décoction améliore aussi les activités des caspases-3 et 9.[163]

Sur une lignée de cellule de leucémie lymphocytaire aiguë, la thymoquinone induit leur apoptose par l'activation des caspases 3 et 8, mais aussi par la sous-régulation de Bcl-2 et la surrégulation de Bax. [164]

²⁶ **Bax** : protéine pro-apoptotique de la famille Bcl-2 qui exerce sa fonction en se liant à des copies d'elle-même.

²⁷ **Bcl-2** : protéine anti-apoptotique située dans la membrane mitochondriale et empêchant l'homodimérisation de Bax et d'autres protéines pro-apoptotiques

En induisant l'apoptose sur les cellules cancéreuses MCF-7, la thymoquinone active les caspases 8, 9 et 7 de façon dose-dépendante. [165] Un extrait méthanolique de *N. sativa* induit l'apoptose des cellules cancéreuses SiHa via l'activation des caspases 3, 8 et 9. [166]

Ces différents résultats indiquent que la thymoquinone induit l'apoptose en association avec l'activation des caspases 8, 9, 7 et 3 avec la caspase 8 agissant comme un activateur en amont et activant la libération du cytochrome c durant l'apoptose induite.[160]

Il est intéressant de constater que l'apoptose induite par la thymoquinone sur les cellules PC-3 n'implique pas toutes ces caspases (confirmation par l'utilisation de z-VAD-FMK), indiquant que l'effet apoptotique sur ces cellules étaient indépendant des caspases. [167] La thymoquinone induit aussi l'apoptose indépendamment des caspases dans une étude sur son effet contre les cellules de glioblastomes. [168]

Une autre étude confirme l'induction de l'apoptose par la thymoquinone indépendamment de p53 en utilisant des cellules ostéosarcomateuses p53-mutant MNNG/HOS qui furent plus résistantes à l'apoptose induite que les cellules p53-null MG63 ostéosarcomateuses.[158] Cette observation s'expliquerait par la surrégulation de p21 (WAF1) par le p53-mutant résultant en l'arrêt du cycle cellulaire. De même que sur les cellules Jurkit de la leucémie lymphoblastique déficientes en p53, la thymoquinone induit l'apoptose par une voie dépendante de p73.[153]

Sur les neuroblastomes Neuro-2a de souris, la thymoquinone réduit leur viabilité en comparaison à des cellules neuronales normales. En effet, la thymoquinone provoque l'apoptose en augmentant le ratio Bax/Bcl-2 provoquant ainsi la libération du cytochrome c de la mitochondrie au cytoplasme. De plus, la thymoquinone active la caspase-3 suivi d'un clivage de la PARP (*Poly ADP Ribose Polymerase*) et sous-régule XIAP ce qui conduit à l'apoptose. [169]

La thymoquinone induit aussi l'apoptose (arrêt du cycle en G₁) sous la dépendance de p53. Ainsi, sur la lignée cellulaire HCT116, celle-ci augmente par 2,5 à 4,5 l'expression de l'ARNm de p53 et de p21 WAF1 tout en inhibant la protéine Bcl-2. La co-incubation avec le PFT- α (pifithrine- α), un inhibiteur spécifique de p53, restaure les niveaux de p53, p21-WAF1 et de Bcl-2 de façon similaire aux cellules de contrôle non-traitées et ainsi répond à l'effet de la thymoquinone en supprimant l'arrêt du cycle et l'apoptose[152]. Quant au traitement des cellules HL-60 et MCF-7 par la thymoquinone, cela provoque une augmentation des ratios Bax/Bcl2 à cause de la sur-régulation des protéines Bax et la sous-régulation des protéines Bcl2, résultat allant donc aussi dans le sens de l'étude précédente. [159-160, 165]

Il est maintenant nécessaire d'utiliser des modèles animaux afin d'expliquer l'implication de la voie de p53 dans l'effet pro-apoptotique de la thymoquinone.

(3) Actions sur Akt

La thymoquinone s'est aussi montrée active dans le contrôle de la voie Akt. Akt est une kinase qui régule la survie cellulaire. Elle s'appelle aussi PKB pour *Protéine Kinase B*. Elle se lie à la membrane plasmique par une liaison au phosphatidylinositol phosphorylé par la PI3K (*Phosphatidyl Inositol 3 Kinase*).

Elle inhibe, par la suppression de l'activation d'Akt et l'inhibition d'ERK, la migration, l'invasion et la formation du tube de cellules de la veine ombilicale humaine.[170] Le LPS, qui a induit la phosphorylation des kinases de survies Akt et ERK1/2, fut inhibé par la thymoquinone dans les cellules dendritiques. [171]

L'inhibition de l'activation constitutive d'Akt par la thymoquinone conduisant à l'apoptose s'est aussi produite par la génération de ROS sur des cellules lymphomateuses. En conséquence de cela, le changement de conformation de la protéine Bax s'est produit menant à la perte du potentiel de membrane mitochondrial et à la libération du cytochrome c vers le cytosol. Puis les activations des caspases-9 et -3, et le clivage de la polyadénosine 5'diphosphate ribose polymérase ont conduit à une apoptose dépendante des caspases. Cela fut confirmé par le prétraitement de ces cellules par le N-acétylcystéine, un puissant antioxydant, qui a pu inverser p-Akt inhibé par la thymoquinone et l'apoptose induite. [172]

Dans une étude, la thymoquinone supprime la prolifération des cellules de sein cancéreuses MCF-7 résistantes à la doxorubicine, et aussi sur-régule l'expression de PTEN²⁸, un suppresseur de tumeur qui entraîne la diminution importante de la phosphorylation d'Akt, provoquant en fin de compte l'augmentation des niveaux de p53 responsable de l'arrêt du cycle cellulaire en G₂/M puis de l'apoptose des cellules. Cela fut confirmé par l'ARNsi spécifique de PTEN qui a annulé l'apoptose induite par la thymoquinone résultant en la survie des cellules.[159] Les effets modulateurs de la thymoquinone sur Akt sont à nouveau démontrés sur les cellules MDA-MB-468 et T-47D. [173]

²⁸ **PTEN** : phosphatase jouant le rôle de suppresseur de tumeur. Elle est impliquée dans la régulation du cycle cellulaire en déphosphorylant le PI3P. Cela résulte donc en une inhibition de la voie de signalisation d'Akt.

(4) Inhibition de la voie TLR-4

Il faut savoir que l'activation du NF- κ B joue un rôle important dans les voies de signalisations pro-fibrogéniques en réponse au LPS via l'activation de TLR-4.

Sur les cellules HSC activées par le LPS, la thymoquinone inhibe les expressions de CD14 et du TLR-4 d'un certain point, ce qui pourrait partiellement contribuer à son effet anti-inflammatoire.

De plus, LY294002, un inhibiteur de la PI3K réduit les expressions de CD14 et du TLR-4, suggérant que la voie de signalisation de PI3K pour être impliquée dans celle de TLR-4. Par ailleurs, la thymoquinone diminue α -SMA (*α -Smooth Muscle Actin*) et le collagène-1 puis provoque l'apoptose des cellules HSC au bout de 24 heures. Aussi, les cellules HSC traitées par LY294002 expriment beaucoup moins d' α -SMA et de collagène-1 après la stimulation par le LPS, suggérant par-là que la voie de signalisation de PI3K pourrait contribuer à la progression de la fibrose hépatique.

Les données de cette étude *in vitro* illustre que l'apoptose induite par la thymoquinone sur les cellules HSC est synergique à la suppression de la voie de signalisation de TLR-4 réduisant par-là les expressions d' α -SMA et du collagène-1.

Dans les macrophages hépatiques, l'activation de PI3K permet la production de cytokines ainsi que la prolifération d'hépatocytes suite à une hépatectomie. PI3K régule la croissance hépatocytaire à la suite d'une réduction de volume du foie en impliquant l'activation d'Akt.

Dans cette étude, l'inhibition de la fibrogénèse est associée à la réduction de l'expression d' α -SMA et de la production du collagène. Plusieurs mécanismes peuvent exister par lesquels PI3K favoriserait son activation. PI3K/Akt sont aussi impliqués dans la transduction de signaux extracellulaires. L'utilisation d'un inhibiteur de PI3K permet d'atténuer la progression de la fibrose (réduction d' α -SMA et du collagène 1). D'un autre côté, la thymoquinone bloque la phosphorylation de PI3K, puis par conséquent supprime la signalisation de TLR-4 et l'activation des cellules HSC.

Compte tenu du rôle crucial de la PI3K sur l'activation des cellules HSC et la production de collagène, la capacité de la thymoquinone à inhiber PI3K peut être étroitement liée à son effet anti-fibrogénique.

Récemment, c-FLIP (*cellular FLIP*) a été identifié comme étant un facteur majeur de résistance et un régulateur anti-apoptotique qui inhibe l'apoptose. Il existe plusieurs isoformes de c-FLIP dont notamment c-FLIP_L dont l'expression pourrait servir de régulateur de l'apoptose dans les tissus normaux et pouvant décider chez une cellule d'aller en apoptose ou

de survivre. En effet, son niveau d'expression est responsable d'une double fonction : inhiber ou accroître l'activation de la caspase-8 induite par Fas (*First apoptosis signal*).

Dans cette étude, l'isoforme était un inhibiteur de l'apoptose après le traitement par la thymoquinone des cellules HSC. La thymoquinone supprime l'expression de XIAP, indiquant qu'elle induisait l'apoptose des cellules HSC avec l'inhibition combinée de FLIP et de XIAP.

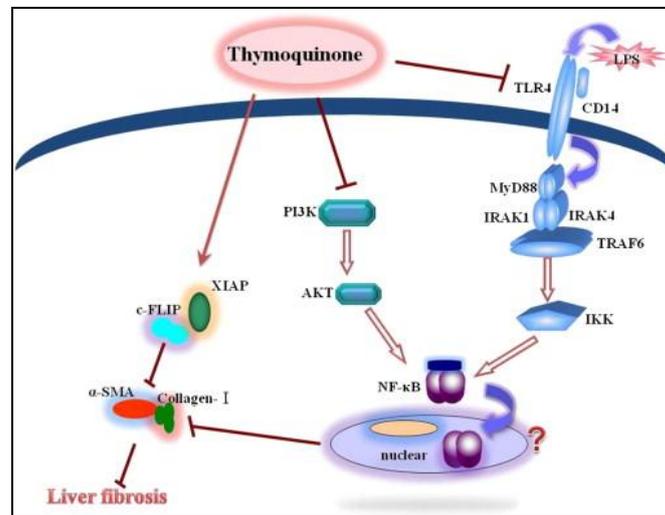


Figure 13 - Proposition d'une voie de signalisation anti-fibrogénèse de la thymoquinone

Le mécanisme anti-fibrogène de la thymoquinone peut se faire en partie par la sous-régulation de la signalisation de TLR-4 et par le blocage de la phosphorylation de PI3K/Akt sur les cellules HSC stimulées par le LPS. De plus, la thymoquinone montre une activité pro-apoptotique contre les cellules HSC en régulant les expressions de c-FLIP et de XIAP. En conséquence, la thymoquinone inhibe les niveaux de protéines fibrogéniques comme le collagène-I et α -SMA, indiquant que la thymoquinone pourrait renverser le développement de la fibrose hépatique. [174]

(5) Inhibition de la synthèse d'ADN : inhibition de l'incorporation de la thymidine

Des défauts dans la synthèse de l'ADN peuvent provoquer l'apoptose des cellules cancéreuses et inhiber leur prolifération. Dans les traitements des cancers chez l'homme, on utilise le 5-FU pour inhiber l'incorporation de la thymidine dans la synthèse de l'ADN.

N. sativa provoque l'inhibition de l'incorporation de la thymidine à l'intérieur de plusieurs cellules cancéreuses.[150] De la même manière, la thymoquinone empêche aussi l'incorporation de la thymidine dans les cellules fibrosarcomateuses.[175] De plus, une décoction comprenant *N. sativa*, *Hemidesmus indicus* et *Smilax glabra* a été testée contre la

lignée cellulaire humaine HepG2 et il fut rapporté qu'elle provoqua l'inhibition de la synthèse de l'ADN par l'évaluation de la consommation de ¹⁴C-Leucine et au ³H-thymidine. [176]

Plus tard, la même équipe montre que cette même décoction induit une fragmentation de l'ADN et des changements morphologiques associés à l'apoptose (condensation nucléaire, fragmentation du noyau, bourgeonnement de la membrane nucléaire et corps apoptotiques). [163]

C'est ainsi que l'hypothèse de l'apoptose et de l'inhibition de prolifération cellulaire par défaut de synthèse de l'ADN a pu être évoquée comme mécanisme d'action anticancéreux possible pour *N. sativa* et la thymoquinone.

(6) Implication du stress oxydatif

Plusieurs études ont démontré l'induction de l'apoptose par la thymoquinone via la production de ROS, et cela en contraste de ses effets antioxydants décrits précédemment.

La thymoquinone induit l'apoptose des cellules cancéreuses DLD-1 de colon humain par la possible production de ROS car le NAC annule la mort cellulaire.[177] Similairement, les études sur les récepteurs aux androgènes des cellules cancéreuses prostatiques C4-2B et PC-3 révèlent que la thymoquinone augmente les niveaux de ROS (x3) et diminue les niveaux de GSH (60 %). Ces deux changements et l'inhibition de croissance furent à leur tour inhibés lorsque les cellules furent prétraitées par le NAC. Dans l'étude, la thymoquinone n'augmente pas l'activité des caspases pour donner son effet apoptotique mais active plutôt JNK²⁹ et sur-régule les expressions de gènes impliqués dans l'arrêt de la croissance, dans les dommages de l'ADN et l'AIF³⁰ (*Apoptosis-inducing factor-1*). Elle sous-régule les expressions de plusieurs protéines liées à Bcl2 (BAG-1, Bcl2, Bcl2A1, Bcl2L1 et BID). Ainsi ces résultats suggèrent bien que la mort cellulaire induite par la thymoquinone serait due principalement à l'augmentation de la génération de ROS et à la baisse des niveaux de GSH, et indépendante de l'activité de l'AR.[167]

Dans une étude sur l'apoptose de chondrocytes, l'induction de la génération de ROS par la thymoquinone régule l'apoptose par une modulation des voies PI3K/Akt et p38kinase. [178]

Nous avons vu plus haut que le stress oxydatif était impliqué dans l'apoptose via l'inhibition de l'activation d'Akt sur des cellules lymphomateuses.[172]

²⁹ **JNK** : Cette famille de kinases appartient à la grande famille des MAPKinases qui régule plusieurs fonctions cellulaires importantes comme la croissance cellulaire, la différenciation, la survie et l'apoptose.

³⁰ **AIF** : Il s'agit d'une flavoprotéine dotée d'une activité proapoptotique induisant la condensation de la chromatine indépendamment des caspases et la fragmentation de l'ADN.

Sur la lignée cellulaire ABC (*Activated B-Cell lymphoma*), la thymoquinone provoque leur apoptose via la libération de ROS. [179]

Dans une autre étude, il est émis comme hypothèse que la thymoquinone puisse passer d'une activité antioxydante à une activité pro-oxydante par la présence d'ions métalliques comme le cuivre. Les niveaux tissulaires, cellulaires et sériques de cuivre étant plus élevés dans divers tumeurs malignes, puis, sachant qu'il est aussi un ion présent dans la chromatine et associé à des bases azotés comme la guanine, l'effet de la thymoquinone a été étudié sur des lymphocytes humains. Il apparaît que la thymoquinone provoque une rupture de l'ADN de façon oxydative. Cette rupture étant inhibée par des agents chélatants du cuivre comme la néocuproïne ou la bathocuproïne. Ce mécanisme pro-oxydant pourrait expliquer l'activité anticancéreuse de la thymoquinone. [180]

In vivo, sur un modèle de souris (xénogreffe de tumeur du sein), la thymoquinone possède des effets antiprolifératifs et pro-apoptotique par la phosphorylation de p38 via la génération de ROS. La thymoquinone inhibe aussi dans cette étude l'expression de gènes de protéines pro-apoptotiques comme XIAP, survivine, Bcl-xL et Bcl-2. [181]

L' α -hédérine montre aussi un effet pro-apoptotique par l'augmentation de la production de ROS dans les cellules P388 de leucémie sur des souris et à la diminution du GSH intracellulaire menant à une perturbation des fonctions mitochondriales puis à l'apoptose. [182]

Il apparaît que les ROS jouent un rôle dans le mécanisme apoptotique de la thymoquinone dans les cellules cancéreuses. Cependant, cet effet requière des recherches encore plus poussées car nous savons que les ROS sont capables de produire de possibles effets indésirables sur le corps.

(7) Actions sur la voie des PPARs

Il a été montré que la thymoquinone avait une activité sur les PPARs (*peroxisome proliferator-activated receptors*), incluant PPAR- γ et PPAR- β/δ sur la lignée MC-7. Du fait du rôle du PPAR- γ dans des mécanismes anticancéreux, l'étude du rôle de la thymoquinone s'est alors posée. En effet, des interactions entre celle-ci et le récepteur du PPAR- γ ont pu être démontrées. Pour la première fois, il est montré que la thymoquinone augmente l'activité du PPAR- γ . De plus, l'apoptose induite sur les cellules MC-7 a pu être contrée par l'utilisation de GW9662, un inhibiteur du PPAR- γ suggérant ainsi que la thymoquinone pourrait avoir un rôle de ligand du PPAR- γ . En effet, il a été montré par la suite que la thymoquinone formait

des interactions avec sept résidus polaires et six résidus apolaires à l'intérieur de la poche de liaison au ligand du PPAR- γ qui sont très importants pour son activité.

Prises ensemble, ces données suggèrent que d'une part la thymoquinone pourrait avoir des implications potentielles dans la prévention du cancer du sein et son traitement, et d'autre part que l'effet antitumoral de la thymoquinone pourrait avoir lieu par la modulation de la voie d'activation du PPAR- γ . [165]

(8) Actions sur les phosphodiesterases (PDEs)

Ce sont des régulateurs des niveaux intracellulaires de nucléotides cycliques qui peuvent moduler les voies de mort cellulaire dépendantes de l'AMPc et du GMPc.

Il a été montré que la thymoquinone pouvait induire une sous-régulation de PDE-1A sur les cellules Jurkat de la leucémie lymphoblastique aiguë (LLA) avec une importante sous-régulation de UHRF1³¹ (*Ubiquitin-like, PHD Ring Finger 1*), un intégrateur épigénétique, via un mécanisme dépendant de p73. [153] Plus tard, PDE-1A qui était sous-régulé directement par la thymoquinone, a eu un rôle en amont dans la régulation de l'expression de p73 et UHRF1. La réexpression de PDE-1A par la transfection d'un vecteur a pu contre-attaquer l'effet apoptotique de la thymoquinone tout comme son effet sur la répression de p73 et la réexpression d'UHRF1. Ainsi, l'inhibition de l'expression de PDE-1A pourrait être une nouvelle stratégie thérapeutique pour la gestion de la LLA. [183]

(9) Actions sur STAT3

STAT3 (*Signal Transducer and Activator of Transcription 3*) régule la transcription des gènes impliqués dans la différenciation, la prolifération, l'apoptose, l'angiogenèse, les métastases et les réponses immunes. Il est souvent activé constitutivement dans certains carcinomes et il interfère à différents niveaux de la tumorigénèse. Ainsi, cibler la voie de signalisation de STAT3 a été proposé comme stratégie pour supprimer différents cancers.

Il se trouve que la thymoquinone inhibe la phosphorylation de STAT3 constitutive et celle inducible par IL-6 dans les cellules de myélome multiple U266. Ceci est corrélé à l'inhibition des activations de c-Src³² et de JAK-2³³. [184]

³¹ **UHRF1** : il réprime l'expression de plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs comme p16^{INK4A}, BRCA1 et RB1. Inversement, il est régulé par d'autres gènes suppresseurs de tumeurs comme p53 et p73. Sa sous-régulation dans les cellules cancéreuses favorise l'expression de ces gènes, réprime la croissance cellulaire et induit l'apoptose.

³² **c-Src** : il s'agit d'une tyrosine kinase, produit d'un proto-oncogène, qui lorsqu'il est activé promouvoit les voies de survie, d'angiogenèse, de prolifération et d'invasion.

Sur des fibroblastes embryonnaires de souris où le gène STAT3 avait subi une délétion, le manque dans son activation coïncide avec une augmentation de la résistance à l'apoptose induite par la thymoquinone en comparaison à des fibroblastes sauvages.

Dans la même étude encore, les auteurs rapportent que la thymoquinone sous-régule l'expression de gènes régulés par STAT3 tel que cycline D1, Bcl-2, Bcl-xL, survivine, Mcl-1 et VEGF.

Dans une autre étude, sur les cellules MDN et XG2 de myélome multiple, la thymoquinone provoque un arrêt de croissance de façon dose et temps-dépendant. Par cytométrie de flux, il est montré que la thymoquinone provoque une diminution marquée de la phosphorylation de STAT3, ainsi que les expressions de Bcl-2 et de Bcl-xL sans modulation de la phosphorylation de STAT5. [185]

Il apparaît donc de cette étude que la voie de signalisation de STAT3 est aussi une cible importante de la thymoquinone.

(10) Actions les récepteurs aux chimiokines

Dans le myélome multiple, les cellules plasmiques malignes se trouvent dans la moelle osseuse où elles s'accumulent en étroit contact avec les cellules stromales. Les mécanismes responsables de la chimiotaxie des cellules plasmiques malignes sont encore mal compris. Ainsi, une équipe a commencé à se pencher sur les mécanismes impliqués dans le chimiotactisme des lignées MDN et XG2 du myélome multiple.

Ces deux lignées cellules expriment fortement les récepteurs aux chimiokines CCR-9, CXCR-3 et CXCR-4. L'activation de ce dernier par CXCL-12 résulte en l'association de CXCR-5 et de CD45, ainsi que de l'activation de PLC β 3, Akt, RhoA, I κ B α et ERK1/2. Par une technique de siRNA, l'équipe montre que l'association CD45/CXCR-4 est essentielle pour la migration des cellules de myélome multiple induite par CXCL-12. La thymoquinone inhibe fortement le chimiotactisme de ces lignées cellulaires provoqué par CXCL-12 ainsi que sur des cellules isolées de patients atteints. En outre, la thymoquinone sous-régule l'expression de CXCR-4 ainsi que son association à CD45 via CXCL-12 dans ces cellules. L'équipe avait démontré dans une autre étude que la thymoquinone inhibait CXCL-12 lié à la polymérisation de l'actine F.[185] Enfin, la thymoquinone induit également la relocalisation de Fas/CD95 cytoplasmique vers la membrane des cellules augmentant l'apoptose liée à CD95 de 80 %.[186]

³³ **JAK-2** : c'est aussi une tyrosine kinase impliquée aussi principalement dans la prolifération cellulaire.

(11) Actions sur E2F-1

L'E2F-1 est une protéine de régulation nécessaire à la viabilité et à la prolifération cellulaire. Il apparaît qu'elle joue un rôle important sur le développement du cancer de la prostate hormono-indépendant.

Par une sous-régulation des ARs et d'E2F-1, la thymoquinone provoque l'inhibition de la synthèse d'ADN, de la prolifération et de la viabilité de plusieurs lignées cellulaires cancéreuses (LNCap, C4-2B, DU 145 et PC-3) mais n'agit pas sur les cellules épithéliales hypertrophiques BPH-1 de prostate non cancéreuses. Dans les cellules LNCap, il y fut associé une augmentation de p21(Cip1), de p27(Kip1) et de Bax ; et une inhibition de la progression du cycle cellulaire au niveau de la phase G₁/S. Sur un modèle de souris xénotransplanté de tumeur de la prostate, la thymoquinone inhibe la croissance des cellules C4-2B comme elle l'a fait *in vitro* : une diminution de l'AR, d'E2F-1 et de la cycline A a pu être observée. Ces résultats montrent que la thymoquinone supprime l'expression de l'AR et d'E2F-1 qui sont nécessaires à la prolifération et à la viabilité des cellules cancéreuses de la prostate *in vitro* et *in vivo*. De plus, aucun effet indésirable notable n'est observé chez les souris traitées. [155]

(12) Actions sur la voie Wnt

Les propriétés chimiopréventives de la thymoquinone ont été évaluées sur un modèle murin de polypose adénomateuse familiale (FAP). Il en résulte que 37,5 mg/kg de thymoquinone diminuent le nombre de polypes larges du petit intestin des souris APCMin. La thymoquinone induit l'apoptose dans le tissu néoplasique mais pas dans la muqueuse saine. Lors du traitement la β -caténine est maintenue à la membrane et c-myc diminue dans le noyau, ce qui est associé à une prolifération cellulaire réduite dans les villosités. *In vitro*, la thymoquinone module la voie de signalisation Wnt (fig. 12) en activant GSK-3 β ce qui induit la localisation membranaire de la β -caténine et l'expression réduite de c-myc nucléaire. [187]

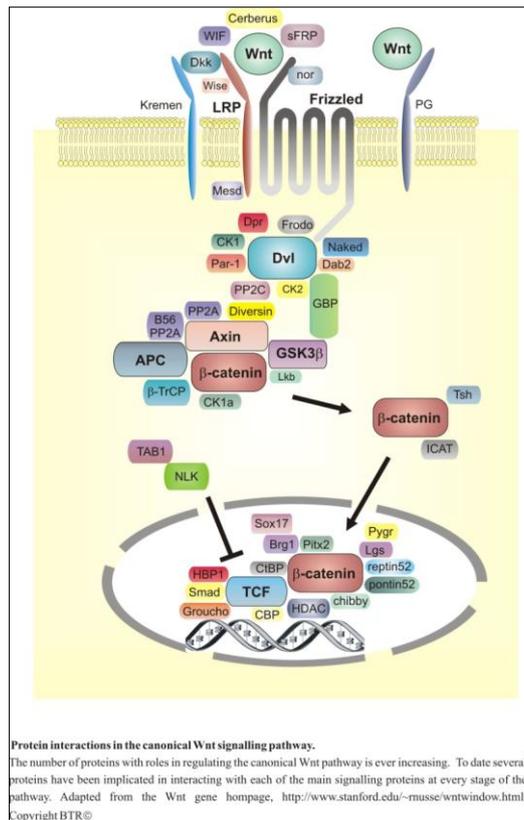


Figure 14 - Voie de signalisation de Wnt [188]

(13) Actions sur les protéasomes

Les protéasomes cellulaires sont impliqués dans l'élimination des protéines endommagées, oxydées ou mal repliées. L'inhibition mène à l'accumulation de certaines protéines et à l'augmentation de l'apoptose.

La thymoquinone provoque une inhibition sélective et temps-dépendante du protéasome sur des enzymes isolées et sur des glioblastomes (U87 MG et T98G) conduisant à l'accumulation de protéines à activités pro-apoptotiques (p53 et Bax) dans ces cellules. [189]

Dans une voie de signalisation du protéasome, la thymoquinone induit l'apoptose dans les cellules cancéreuses pancréatiques FG/COLO357 en sous-régulant Mucine-4³⁴ par l'activation de c-JUN kinase et par l'activation de la voie p38-MAPK. [190]

³⁴ **Mucine 4** : c'est une glycoprotéine exprimée de façon aberrante dans le cancer pancréatique qui contribue à la régulation de la différenciation, de la prolifération, des métastases et de la chimiorésistance des cellules pancréatiques.

(14) Actions sur les télomères

Les télomères sont présents à l'extrémité des chromosomes humains et les protègent des détériorations. La télomérase, joue un rôle important dans la formation, l'entretien et la rénovation des télomères. Il est intéressant de rechercher une éventuelle relation entre les télomères humains, les processus malins et l'utilisation d'agents capables d'inhiber les télomérases dans une optique de thérapie anti-tumorale.

Sur des glioblastomes, la thymoquinone provoque la diminution des télomères par inhibition de l'activité des télomérases induisant ainsi des dommages au niveau de l'ADN, un arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose de ces cellules.[191]

Prises ensemble, toutes ces études ont mis en évidence la capacité de la thymoquinone à induire l'apoptose dans les cellules cancéreuses par la modulation de diverses cibles moléculaires et voies de signalisation.

b) Inhibition de l'angiogénèse, de l'invasion tumorales et des métastases

Plusieurs études ont montré que l'inhibition de l'angiogénèse est une cible intéressante pour l'inhibition de la croissance tumorale et des métastases.

L'injection d'huile essentielle de *N. sativa* au niveau d'une tumeur solide de souris a inhibé le développement de cette tumeur. En effet, au bout de 30 jours de traitement par soit 30 µL (28,5 mg) et 50 µL (47,5 mg) par souris par 48h (six fois), le volume de la tumeur était de 0,22 cm³ et de 0,16 cm³ respectivement alors qu'elle mesurait 2,5 cm³ sur les animaux de contrôle. Par ailleurs le développement de métastases hépatiques a été fortement diminué et la survie des souris améliorée. [192]

L'effet anti-angiogénique de la thymoquinone a été caractérisé par une inhibition de la migration endothéliale cellulaire, de l'invasion et de la formation du tube sur une veine ombilicale humaine. [193] Cet effet fut confirmé par la suite avec une inhibition dose-dépendante toujours par la thymoquinone. [194]

De plus, la thymoquinone inhibe l'invasion des cellules cancéreuses C26 de colon à des doses inférieures aux doses cytotoxiques.[195] La thymoquinone a inhibé l'activation du VEGF³⁵ (*Vascular Endothelial Growth Factor*) induite par un signal extracellulaire régulé par des kinases mais n'a pas eu d'effets inhibiteurs sur l'activation du récepteur-2 du VEGF. [170] La

³⁵ **VEGF** : protéine favorisant la néoangiogénèse, particulièrement utile pour le développement des tumeurs.

diminution significative du nombre de vaisseaux sanguins dans la tumeur aurait ainsi empêché la croissance tumorale dans le modèle xéno greffe souris des cellules cancéreuses de prostate PC-3.

La thymoquinone sous-régule l'expression des produits de gènes de l'angiogenèse (VEG-F et MMP-9³⁶) régulés par le NF-κB.[126]

Une autre étude a montré que la thymoquinone supprimait la migration et l'invasion des cellules Panc-1 de façon dose dépendante. En effet, il est apparu en analyse Western Blot que la thymoquinone sous-régulait le NF-κB et le MMP-9 dans ces cellules pancréatiques. Un modèle métastatique de souris simulant le cancer pancréatique humain a été mis en place par la suite et l'administration de thymoquinone a permis alors de réduire significativement la métastase tumorale en comparaison aux animaux de contrôle. Les expressions du NF-κB et de la MMP-9 dans les tissus tumoraux furent aussi supprimées suite au traitement. Les résultats de cette étude indiquent que la thymoquinone exerce une activité anti-métastatique sur le cancer du pancréas *in vitro* et *in vivo* par une voie impliquant une sous-régulation possible du NF-κB et des molécules qu'il régule comme la MMP-9. [196]

Sur les lignées cellulaires SaOS-2, la thymoquinone présente les mêmes effets en sous-régulant l'activité de liaison du NF-κB à l'ADN, ainsi que les activités de XIAP, de la survivine et du VEGF. Elle inhibe l'angiogenèse et la croissance tumorale via la suppression du NF-κB et des molécules qu'il régule sur un modèle *in vivo*. [194]

Dernièrement, la thymoquinone a inhibé la migration des cellules FG/COLO357 de manière dose-dépendante via une sous-régulation de mucine-4 et la voie du protéasome, provoquant ainsi l'apoptose des cellules cancéreuses pancréatiques par l'activation des voies de c-JUN et de p38 MAPK. [190] Il en fut de même pour les cellules NCI-H460 où les cytokines ENA-78 et GRO-α³⁷, qui sont aussi impliquées dans les phénomènes de néoangiogenèse, sont inhibées. [197] Une autre équipe a obtenu les mêmes résultats (inhibition de la migration et de l'invasion cellulaire) sur les cellules cancéreuses MDA-MB-231. [165]

Comme nous l'avons vu, la thymoquinone a pu réduire la migration, l'adhésion et l'invasion de lignées cellulaires de glioblastome humain avec une sous-régulation de FAK, d'une réduction de phosphorylation d'ERK et de sécrétion de produits de gènes de l'angiogenèse MMP-2 et MMP-9.[198]

³⁶ **MMP** : ce sont des protéases jouant un rôle dans la modification de la matrice extracellulaire (MEC). De ce fait, leur participation dans les phénomènes d'angiogenèse est essentielle.

³⁷ **ENA78** et **GRO-α** sont des cytokines douées de chimiotactisme appartenant à la famille des chimiokines CXC.

La thymoquinone inhibe aussi la métastase de cellules mélanomateuses *in vitro* et *in vivo* en inhibant l'inflammasome NLRP3. L'inflammasome est un complexe multiprotéinique qui régule l'activation de la caspase-1 et les sécrétions d'IL-1 β et d'IL-18. L'inhibition de migration de ces cellules est accompagnée par une diminution de l'expression de l'inflammasome NLRP3 résultant alors en une diminution du clivage protéolytique de la caspase-1. Cette inactivation de la caspase-1 résulte quant à elle à une inhibition des deux interleukines. L'activité du NF- κ B au niveau des cellules de souris est aussi inhibée par la thymoquinone.[199]

Il est établi qu'il y aurait une relation entre le potentiel fibrinolytique de cellules tumorales, l'invasion locale et les métastases. L'huile végétale de *N. sativa* produit une inhibition concentration-dépendante de l'activateur du plasminogène (t-PA), de l'urokinase (u-PA) et de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène type-1 (PAI-1) dans la lignée de cellule de fibrosarcome HT 1080. Cela implique que l'huile possède la capacité à diminuer le potentiel fibrinolytique de ces cellules cancéreuses *in vitro*, et par conséquent que l'inhibition de leur invasion locale et de la formation de métastases peut être un des mécanismes antitumoraux de *N. sativa*. [200]

Globalement, il apparaît donc que les effets prometteurs de la thymoquinone contre le processus métastatique et l'angiogenèse lors du cancer, bien que présents, nécessitent des études supplémentaires afin d'expliquer les mécanismes moléculaires impliqués dans ces actions.

c) Contrôle du cancer

Un des mécanismes impliqués ici serait une désactivation de la voie du NF- κ B (fig. 13) par l'induction de la production de cytokines, contrôlant ainsi l'expression d'oncogènes.

Le NF- κ B est un facteur de transcription qui existe sous forme inactive dans le cytosol. En effet, il est lié à la protéine I- κ B empêchant son activité. Cependant, plusieurs stimuli physiologiques (cytokines, radicaux libres) ou non (rayons UV) peuvent le séparer de celui-ci par la phosphorylation d'I- κ B par IKK (I- κ B kinase) et le rendre ainsi actif. Une fois libre, le NF- κ B peut pénétrer dans le noyau et cibler l'ADN pour activer la transcription de gènes codant des protéines impliquées dans la régulation de la réponse immune, de l'inflammation ou encore de la prolifération cellulaire. Une régulation incorrecte de celui-ci se trouve ainsi être lié au cancer. [125]

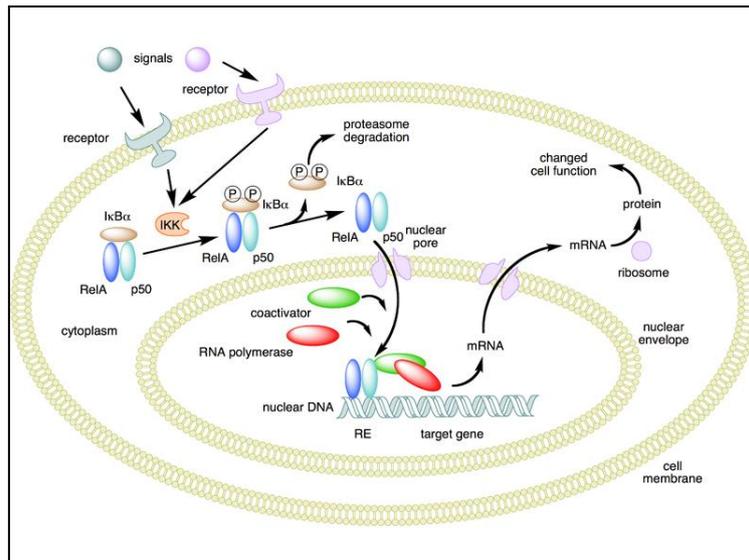


Figure 15 - Mécanisme d'action du NF-κB

La thymoquinone empêche l'activation du NF-κB par le TNF-α sur un mode temps et dose-dépendant. [119] Elle inhibe aussi son activation par divers stimuli carcinogènes et inflammatoires. [126] Ce résultat s'appuie sur la mise en évidence d'une inhibition d'activation du NF-κB par le TNF-α sur des cellules HS766T pancréatiques, de même que sa translocation à l'intérieur du noyau sur ces mêmes cellules ainsi que sur des macrophages stimulés par le LPS. [119, 127]

La suppression de l'activation du NF-κB serait liée à une inhibition séquentielle d'IKK, de sa phosphorylation, de sa dégradation, de la phosphorylation de p65³⁸ et de sa translocation nucléaire, mais aussi à l'expression de certains gènes (fig. 14).

Cependant, une étude précédente avait montré que la thymoquinone n'affectait pas la translocation de p65 dans le noyau mais empêchait la liaison de l'homodimère p50 du NF-κB au promoteur dans les cellules basophiles RBL-2H3 de rats. [128]

³⁸ **p65** (ou **RELA**) : il s'agit d'une protéine qui se complexe avec NFKB1 (ou p50) pour former l'hétérodimère appelé NF-κB

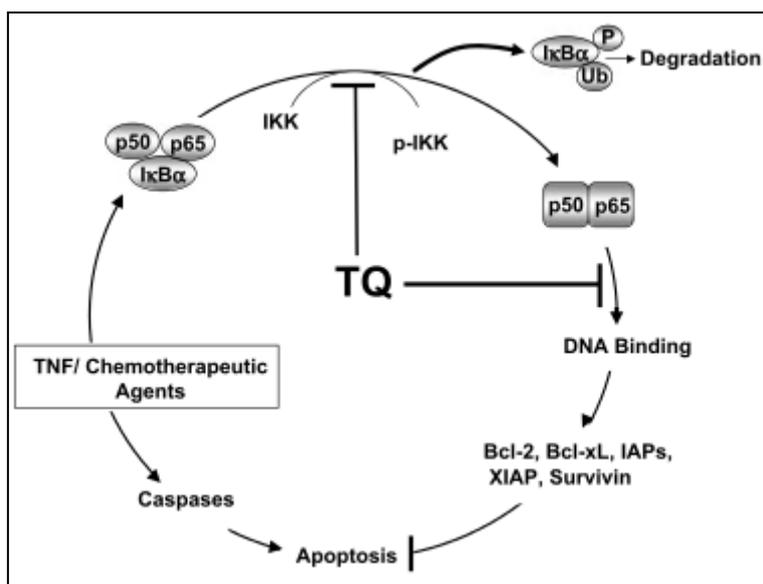


Figure 16 - Mécanisme d'action proposé par lequel la thymoquinone (TQ) inhibe l'activation du NF-κB et l'expression des gènes impliqués dans la survie et la prolifération cellulaire qui sont régulés par celui-ci

[126]

d) Protection des cellules contre le cancer

Dans ce cas-là, la protection des cellules passe par plusieurs mécanismes :

- Augmentation des activités des enzymes antioxydantes et protection des cellules contre le cancer
- Protection des cellules saines d'un quelconque préjudice causé par les rayons ionisants dans le traitement du cancer

(1) Par des activités antioxydantes

Comme nous l'avons bien vu précédemment, plusieurs études ont montré que les huiles de *N. sativa* ou que la thymoquinone possédait une activité antioxydante et qu'elles augmentaient les activités des enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GPx...).

Il est rapporté que l'augmentation d'activité de ces enzymes était bénéfique contre différents types de cancer.

Les différentes études menées ces dernières années ont permis de démontrer que *N. sativa* était capable de protéger les cellules contre la toxicité de certains produits cancérigènes. La plupart du temps, le mécanisme impliqué dans cette action fait intervenir les propriétés antioxydantes de la plante. Voici quelques exemples :

Diéthylnitrosamine (DENA)

Dans cette recherche la DENA a été utilisée pour provoquer un carcinome hépatocellulaire. Ainsi, après injection à des rats, le produit a montré des effets au niveau du foie : augmentation de l'ALAT, de la PAL, de la bilirubine totale et diminution du GSH, GPx, GST et CAT. De plus, des lésions histopathologiques ont été observées dans le tissu hépatique.

La supplémentation par la thymoquinone inverse complètement ces effets et ramène les différentes valeurs à celles de contrôle. Ainsi, en diminuant le stress oxydatif et en préservant l'activité et l'expression de l'ARNm des enzymes antioxydantes, la thymoquinone prévient le développement de l'initiation du cancer du foie induit par le DENA. [201]

1,2-diméthylhydrazine (DMH)

La DMH est utilisé pour induire des carcinogénèses du colon chez les rongeurs. Dans une étude, la molécule induit des dommages oxydants (augmentation des activités du MDA et des enzymes antioxydantes) sur les érythrocytes menant à une hémato-toxicité mise en évidence par la réduction du nombre de globules rouges et de la concentration en hémoglobine. L'augmentation du MDA associée à l'augmentation du GPx et des enzymes antioxydantes (SOD, CAT) dans les globules rouges sont caractéristiques d'une transformation maligne.[202]

Le prétraitement par la thymoquinone restaure tous ces paramètres à un niveau proche de la normale, tandis qu'un traitement post-exposition montre des effets similaires à ceux du groupe DMH. Ce résultat rejoint les différentes conclusions sur ce sujet à savoir que la thymoquinone est capable d'agir comme éliminateur de radicaux libres et de préserver les activités de différentes enzymes antioxydantes.[203]

In vivo sur des souris exposées au DMH, la thymoquinone inhibe la formation de cryptes aberrantes et le développement tumoral. [195]

N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)

L'administration d'huile végétale de *N. sativa* ou de thymoquinone diminue la toxicité de médicaments anticancéreux sur les cellules saines par une surrégulation des mécanismes antioxydants, indiquant ainsi leur potentiel en application clinique dans le but de minimiser

les effets toxiques des traitements anticancéreux.[204] Les différentes interactions entre l'huile, de ses produits et de ses dérivés sont mentionnées à la suite de cette partie de l'exposé.

(2) Par la protection contre les rayons ionisants

La radiothérapie est l'une des stratégies fréquemment rencontrée dans le traitement des cancers. Cependant, elle a l'inconvénient d'être nuisible aux tissus.

En effet, ce type de traitement est capable d'induire la formation de ROS, impliqués dans les dommages cellulaires. Sur des rats exposés à une seule dose de 6 Gy, il est montré que le traitement par *N. sativa* et le glutathion pouvait significativement antagoniser les effets de la radiation (augmentation des marqueurs du stress oxydatif : MDA sanguin, nitrates et nitrites). Par conséquent, *N. sativa* pourrait être un agent bénéfique dans la protection des tissus exposés à des radiations ionisantes.[205]

Plus tard, le potentiel radioprotecteur de l'huile vierge de *N. sativa* contre les effets indésirables hématopoïétiques de radiations gamma a été recherché. La radiothérapie induit une réduction significative du titre d'anticorps hémolytiques et une réaction d'hypersensibilité retardée chez les rats irradiés, en addition d'une leucopénie significative, d'une chute des protéines plasmatiques totales et de la concentration en globulines, de même que la réduction des follicules lymphoïdes de la rate et du thymus. De plus, un stress oxydatif apparaît aussi avec l'augmentation de la concentration de MDA associée à une diminution plasmatique des activités de la GPx, de la CAT et de la SOD érythrocytaire. L'administration orale d'une dose de *N. sativa* avant l'irradiation normalise considérablement tous ces critères et produit de significatives régénérations des follicules lymphoïdes. Ainsi, l'huile végétale de *N. sativa* peut être reconnue comme agent radioprotecteur naturel contre les effets immunosuppresseurs et oxydants des radiations ionisantes.[206] La protection contre des dommages oxydatifs causés dans une autre étude est aussi prouvée par la prise orale d'un extrait alcoolique de *N. sativa*, confirmant ainsi les résultats précédents. [207] Il en est de même dans une étude de la même équipe avec un macérat de *N. sativa* (100 mg/kg) qui protège différents organes (rate, foie, cerveau, intestin) chez des souris saines et chez d'autres porteuses d'un fibrosarcome. [208]

3. Les dérivés de la thymoquinone et de l' α -hédérine

a) *Actions de la thymoquinone et de la poloxine sur Plk-1-PBD*

(1) Plk-1 : biologie, fonctions et rôle de marqueur pronostic dans le traitement du cancer

La polo-like kinase 1 (Plk-1) joue un rôle très important dans le processus de division cellulaire et représente ainsi une cible prometteuse de thérapies anticancéreuses. Les Plks sont des protéines kinases qui possèdent toutes un domaine amino-terminal catalytique responsable de la liaison de l'ATP et de l'activation de l'enzyme et un domaine carboxy-terminal PBD (*Polo Box Domain*) qui est impliqué dans la liaison de phosphopeptides.[209-210]

Plk-1 est activée ou inactivée par son interaction avec d'autres protéines, peptides, petites molécules ou encore par sa translocation cellulaire. Dans son rôle de protéine kinase, elle modifie l'activité d'autres protéines en les phosphorylant.

Plk-1 n'est exprimée que lorsque les cellules sont en division : les plus hauts niveaux de Plk-1 peuvent être observés en phases G₂/M du cycle cellulaire. Plk-1 est impliquée aussi dans l'activation de la cycline B1 et de Cdc25C, déclenchant ainsi l'entrée de la cellule en mitose. Elle joue aussi un rôle dans la maturation des centromères, la formation et le maintien du fuseau mitotique. En prométaphase et en métaphase, on peut la détecter au niveau des kinétochores et aux pôles du fuseau. Durant l'anaphase et la télophase, elle est déplacée au centre du fuseau (fig.15). [211]

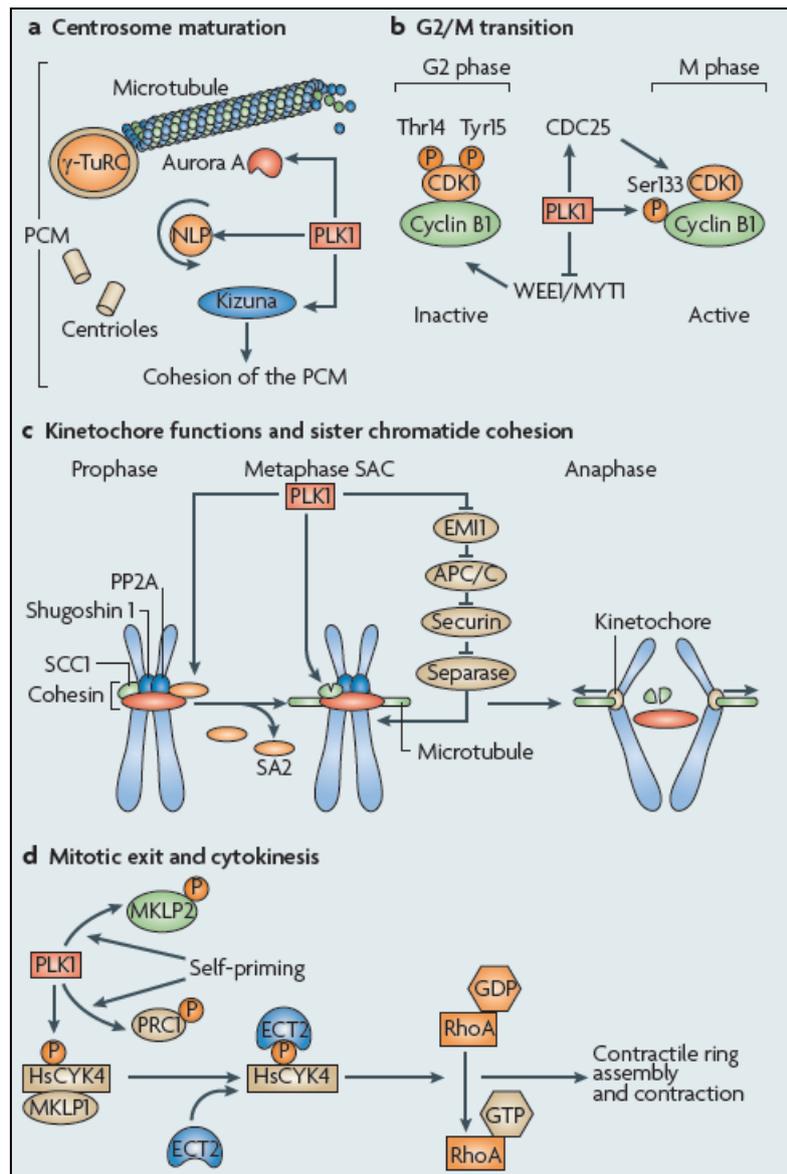


Figure 17 - Fonctions cellulaires de Plk-1 [212]

Plk-1 joue aussi un rôle important dans le développement du cancer. Si elle vient à subir des mutations ou si elle est trop exprimée, le point de contrôle mitotique du cycle cellulaire en est affecté. En raison d'un contrôle défectueux, l'arrêt du cycle cellulaire dans les cellules cancéreuses peut être annulé. Il apparaît qu'après un dommage au niveau de l'ADN, l'activité de Plk-1 permet aux cellules bloquées en phase G₂/M de retourner en mitose par l'activation de Cdk1.

En comparaison à des tissus normaux, Plk-1 est surexprimée dans plusieurs cancers : cancer du sein, carcinome ovarien ou colorectal, cancer de l'utérus, de la peau ou encore de l'estomac. Il a été montré que l'expression de Plk-1 est corrélée à des paramètres clinico-pathologiques chez des patients (stade, niveau, métastase, survie). De ce fait, Plk-1 pourrait

servir de marqueur de grande valeur pour le pronostic de l'issue d'un traitement ou pour estimer la durée de survie possible de patients cancéreux.[213]

(2) Inhibition de Plk-1

A partir du moment où Plk-1 est impliquée dans différents types de cancers, la kinase devient une cible thérapeutique intéressante et le développement d'inhibiteurs spécifiques peut s'avérer utile pour le traitement sélectif du cancer tout en évitant une toxicité vis-à-vis des tissus sains. [214]

Les différents inhibiteurs de Plk-1 peuvent se distinguer par leur mode d'action : compétition avec l'ATP ou le substrat et compétition avec l'ATP et le substrat de Plk-1. Les premiers inhibiteurs à être synthétisés furent des analogues de l'ATP. Du fait que la séquence en acides aminés est hautement conservée entre les différentes Plks pour la fixation de l'ATP, la nécessité de produire des inhibiteurs plus spécifiques est alors requise.[212] Par la suite, afin d'augmenter l'inhibition spécifique de Plk-1, des substances se liant à la PBD et entrant en compétition avec les différents substrats de l'enzyme ont été développées. Etant donné que les Plks sont les seules molécules connues pour contenir les domaines PBD, il a été tenté d'augmenter la spécificité des inhibiteurs en utilisant des séquences complémentaires du PBD. C'est ainsi que fut découvert l'analogue synthétique de la thymoquinone : la poloxine (fig.16). [213] Les autres inhibiteurs qui se lient au PBD de Plk-1 sont la purpurogalline et le poloxipan. [212]

D'autres inhibiteurs potentiels furent développés pour être encore plus spécifiques. Tout d'abord des inhibiteurs bifonctionnels qui bloquent la liaison de l'ATP et du substrat via deux domaines interconnectés. Ainsi ces modèles combineront compétition avec l'ATP (haute spécificité) et avec le substrat (spécificité) permettant de lier avec une plus grande affinité l'enzyme cible tout en étant capable d'éviter la liaison aux kinases très proches structurellement.[213] Un dernier type d'inhibiteur pourrait interagir avec le substrat pour éviter sa phosphorylation. Pour ces deux derniers types d'inhibiteurs, aucune molécule n'a pour l'instant été développée pour Plk-1.[215]

Le développement de molécules capables d'inhiber en amont l'expression du gène PLK1 pourrait être aussi une piste à explorer. [209, 212-213]

(3) La poloxine

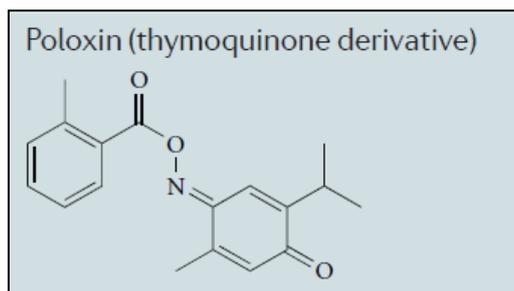


Figure 18 - La Poloxine [212]

La poloxine est un dérivé synthétique de la thymoquinone. Il s'agit de la première molécule identifiée capable de bloquer Plk-1 en se liant spécifiquement au PBD. La thymoquinone est capable d'inhiber fortement Plk-1, mais aussi d'autres kinases comme Plk-2, Plk-3 ou encore STAT3 comme nous l'avons vu. Bien qu'elle soit plus spécifique que la thymoquinone, la poloxine est par contre moins active sur les effets inhibiteurs contre PBD de Plk-1.[216]

In vitro, la poloxine provoque la délocalisation de Plk-1, l'arrêt de la mitose suivie de l'apoptose des cellules HeLa. [217-218] Et parmi ces effets *in vivo* sur le cycle cellulaire : une réduction de la localisation de Plk-1 au niveau du kinétochore et des centrosomes qui induisent des défauts sur les arrangements chromosomiques puis l'arrêt des cellules, saines et malignes, en prométaphase suivie du phénomène d'apoptose *in vivo*. [219]

b) Actions de divers analogues de la thymoquinone

Les dérivés 4-acylhydrazone et 6-alkyle de la thymoquinone ont été testés pour l'inhibition de croissance de plusieurs lignées cellulaires cancéreuses. Le conjugué 6-hencosaheptaényle de la thymoquinone a été le plus actif sur toutes les tumeurs résistantes. Il exerce des effets antiprolifératifs et pro-apoptotiques (indépendants des caspases) sur les cellules 518A2 de mélanome et HL-60 avec, pour les deux actions une diminution du potentiel de membrane mitochondrial et une augmentation de la génération de ROS. [220]

Par modification des sites carbonyles et noyaux benzéniques pour augmenter leur lipophilie, 27 analogues de la thymoquinone furent testés pour observer leurs activités biologiques contre des lignées cellulaires cancéreuses pancréatiques. Parmi ces composés, TQ-2G, TQ-4A1 et TQ-5A1 se sont montrés plus puissants que la thymoquinone en terme d'inhibition de croissance cellulaire, d'induction de l'apoptose d'activation du NF- κ B et de sous-régulation des Bcl-2, Bcl-xL, survivine et XIAP antiapoptotiques. Aussi, l'activité de la caspase-3 s'est montrée aussi augmentée. Sachant que la libération du cytochrome c de la mitochondrie est un

événement en amont de l'activation des caspases et sachant aussi que la thymoquinone est capable d'induire la libération du cytochrome-c, nous pouvons suggérer que l'induction de l'apoptose par la thymoquinone et par ses analogues se fait en partie par la voie mitochondriale. Ces analogues inhibent aussi la sécrétion de PG_{E2} dans des cellules surexprimant COX-2 (BxPC-3). Ils augmentent la sensibilisé à l'apoptose induite par la gemcitabine et l'oxaliplatine sur les cellules carcinomateuses pancréatiques MiaPaCa-2 résistantes à la gemcitabine. De plus, que ce soit la thymoquinone ou ses analogues, tous se sont montrés non-toxiques sur les souris testées avec des CI50 de $25\mu M$ et inférieurs à $10\mu M$ respectivement. [221-222]

Dans une autre étude, les effets antiprolifératifs de 19 analogues de la thymoquinone ont été screenés contre six lignées cellulaires humaines (HCT-116, MCF-7, MDA-231, T74d et MRCS). Le composé principal, le rigosertib (ON01910)³⁹ (fig. 17) bloque les cellules cancéreuses en phase G2/M, augmente l'index mitotique et le p53 cellulaire, améliore l'activité de la caspase-3 et cause la formation de fuseaux mitotiques multipolaires. On retrouve ici d'ailleurs quelque chose de cohérent avec l'inhibition de Plk 1-PBD. De plus, par conception structurale de ligand, l'identification du composé OC2-23 a été faite. Ce dernier serait dix fois plus puissant que le rigosertib. [223]

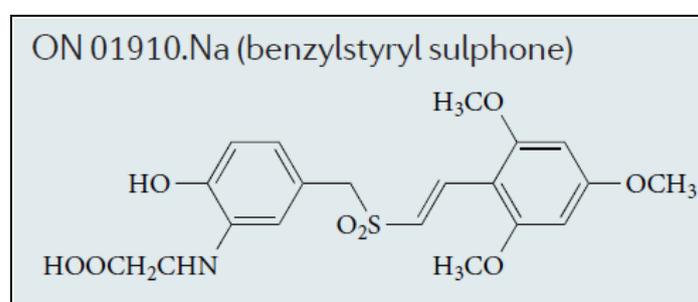


Figure 19 – Le Rigosertib [212]

Une autre étude rapporte les effets de la thymoquinone couplée à des pharmacophores⁴⁰ de gallate et de fluorogallate sur la viabilité et l'induction de l'apoptose sur des lignées cellulaires pancréatiques cancéreuses. Les études moléculaires de liaison révèlent un bon ajustement pour ces analogues dans la cavité des COX-2 et de meilleures énergies de liaison par rapport à la thymoquinone seule. L'activité antiproliférative est supérieure aussi et il y a

³⁹ **ON01910 (Rigosertib)**: il s'agit d'une petite molécule inhibitrice de l'activité de Plk1 qui induit l'arrêt mitotique des cellules tumorales se caractérisant par des anomalies du fuseau menant à leur apoptose.

⁴⁰ **Pharmacophore** : ensemble des groupements fonctionnels disposés selon un arrangement spatial adéquat, assurant la fixation de la molécule d'intérêt sur un récepteur et ainsi induire une réponse physiologique.

une excellente activité *in vitro* des cellules pancréatiques en combinaison avec la gemcitabine. [224]

c) *Actions de la nano-thymoquinone*

La thymoquinone a été encapsulée avec 97,5 % de rendement dans une formulation nanoparticulaire basée sur un poly(lactide-co-glycolide) PLGA et le stabilisateur polyéthylène glycol PEG-5000. Par microscopie électronique, le diamètre des particules fut confirmé entre 150 et 200 nm. Du fait de leur taille particulière et donc de leur biodisponibilité augmentée, les composés nano peuvent plus facilement rentrer dans les cellules et leurs différents organites. Ainsi, ils tendent à être plus efficaces que leurs homologues microstructuraux.

En conséquence, les nanoparticules PLGA de thymoquinone se montrent plus efficaces en supprimant la prolifération de cellules des cancers du côlon (HCT-116), du sein (MCF-7), de la prostate (PC-3), du myélome multiple(U-266) et de la leucémie myéloïde (KBM-5) comme prouvée par l'inhibition de l'activation du NF- κ B et les expressions de la cycline D1, de MMP-9 et du VEGF qui sont les marqueurs de la prolifération cellulaire, de la métastase et de l'angiogenèse respectivement. De plus, la cytotoxicité du TNF et du paclitaxel sur les cellules KBM-5 est améliorée par l'utilisation de ces nanoparticules en comparaison au composé parent.[225]

Une autre équipe montre que la thymoquinone chargée de poly (D, L lactide-co-glycolide) nanoparticules est plus puissante que la thymoquinone seul dans son activité antioxydante et inhibitrice de croissance sur les cellules MDA-MB-231. [226]

4. Résistance à la thymoquinone

Dans une étude portant sur l'effet de la thymoquinone sur un panel de lignées cellulaires du cancer du sein, il apparaît un état réfractaire des cellules MCF-7 à la molécule de *N. sativa*. L'analyse Western Blot montre que ces cellules expriment des hauts niveaux de NQO1 (NADPH quinone oxydoréductase 1) cytoprotectrices, qui est responsable de la résistance à la thymoquinone du fait que son inhibition par le dicoumarol rend les cellules MCF-7 sensibles à la thymoquinone.

Ces résultats peuvent être cliniquement importants à partir du moment où l'on considère la thymoquinone comme un possible adjuvant pour le traitement du cancer du sein alors que les tumeurs du sein expriment grandement NQO1.[227]

5. Associations entre la thymoquinone et des traitements anticancéreux

Dans le but d'augmenter leur efficacité, de limiter leurs effets indésirables et aussi pour prévenir le développement de résistances, les médicaments anticancéreux sont le plus souvent prescrit en association. Récemment est apparu une nouvelle méthode dans la thérapie anticancéreuse : l'association de traitement médicamenteux à des produits naturels, se fondant la capacité de certains composés naturels de déclencher la mort cellulaire avec de faibles doses d'agents de chimiothérapie et avec peu d'effets indésirables.

La combinaison de la thymoquinone (antioxydante et cytoprotectrice) et de ces traitements anticancéreux peut résulter en un plus grand effet cytotoxique à l'encontre des cellules cancéreuses ou peut tout simplement agir et réduire la toxicité induite par le médicament sur les cellules non cancéreuses.

a) Association au 5-fluorouracile

En association au 5-FU et à la doxorubicine, la thymoquinone exerce un effet antiprolifératif puissant sur des cellules cancéreuses du sein, augmentant par cela leur cytotoxicité.[165] L'association thymoquinone-5-FU se montre aussi efficace sur des cellules cancéreuses gastriques *in vitro* et sur un modèle de souris *in vivo*. Sur ce dernier modèle, l'association a même un effet plus puissant que l'agent antitumoral seul.[228]

L' α -hédérine, à des concentrations inférieures au CI_{50} améliore la cytotoxicité du 5-FU de 3,3 fois sur le modèle de carcinome du colon humain, les cellules HT-29. [229]

b) Association avec le bortézomib (VELCADE)

La thymoquinone potentialise l'effet apoptotique du thalidomide et du bortézomib sur les cellules U266.[184]

c) Association avec le cisplatine

L'équipe de Jafri a démontré un effet antitumoral synergique de la thymoquinone en combinaison avec le cisplatine sur des cellules pulmonaires cancéreuses. En plus de cela, la thymoquinone inhibe l'invasion cellulaire et la production des cytokines ENA-78 et Gro- α impliquées dans la néoangiogenèse. En outre, en utilisant ces mêmes cellules pulmonaires,

l'association des deux molécules réduit la taille de la tumeur ainsi que son poids sur un modèle de xénogreffe de souris *in vivo*, et cela sans toxicité ajoutée pour les animaux. [197] Les effets de la néphrotoxicité, qui est l'un des principaux effets indésirables du cisplatine, ont pu être améliorés chez des souris traitées par un extrait de *N. sativa* [230] et par la thymoquinone [231] dans deux études distinctes. Dans la première étude, la baisse du taux d'hémoglobine et la numération leucocytaire sont rétablies tandis que l'urée et la créatinine sérique sont réduites avec des améliorations au niveau de la polyurie, de la masse rénale et de la clairance de la créatinine dans la seconde étude. D'autres études vinrent par la suite confirmant les effets d'extraits de *N. sativa* et de la thymoquinone sur les atteintes rénales provoquées par le cisplatine du point de vue biologique et histologique.[232-234]

d) Association avec le cyclophosphamide (ENDOXAN)

La cardiotoxicité (stress oxydatif, augmentation de la créatinine kinase, du LDH, du cholestérol, des triglycérides, de la créatinine) induite par le cyclophosphamide chez des rats a été atténuée par la thymoquinone par une action potentielle sur la réduction des stress oxydatifs et nitrosatifs, ainsi qu'en préservant l'activité des enzymes antioxydantes. [235] Une précédente étude utilisant l'huile végétale de *N. sativa* et la thymoquinone ont aussi montré des effets antioxydants contre la toxicité induite par le cyclophosphamide. [204]

e) Association avec la doxorubicine (ABRIBLASTINE – MYOCET)

La cardiotoxicité de la doxorubicine est améliorée par le traitement par la thymoquinone sans compromettre son activité.[236]

De même que la néphropathie (syndrome néphrotique, hyperlipidémie, hyperprotéïnémie, hyperalbuminurie, hyperurémieprovoquée, stress oxydatif) chez des rats par cette molécule est aussi réduite par l'utilisation de la thymoquinone. [237]

En combinaison avec le TNF, le paclitaxel ou la doxorubicine, la thymoquinone améliore l'apoptose des cellules KBM-5. [126] De même que les effets toxiques de l'association ont été testés sur les cellules HL-60, 5182A de mélanome, HT-29, KB-V1 et MCF-7, ainsi que sur leurs variant MDR. La thymoquinone améliore les propriétés anticancéreuses de la doxorubicine, particulièrement sur les cellules HL-60 et MDR MCF-7 (augmentation de l'inhibition de croissance, de la concentration de ROS). [238]

Dernièrement, les effets cytotoxiques de différentes concentrations d'extraits de *N. sativa* ont été étudiés sur les cellules MCF-7 dans le but d'une possible thérapie adjuvante au traitement

par la doxorubicine. Il ressort de cette étude qu'avec une formulation de nano-émulsion, l'huile de *N. sativa* peut être un composé antitumoral plus cytotoxique. Du fait que l'activité de la doxorubicine soit améliorée en présence de *N. sativa*, l'association doxorubicine/nano-émulsion lipidique de *N. sativa* est prometteuse et pourrait servir en thérapeutique.[239] Sur des souris porteuses de xénogreffe du cancer du sein, la thymoquinone a des effets renforcés par l'association avec la doxorubicine dans l'inhibition de la croissance tumorale. [181]

f) Association avec le gemcitabine (GEMZAR)

La préexposition de cellules pancréatiques humaines (HPAC et BxPC-3) à la thymoquinone potentialise l'effet cytotoxique de la gemcitabine et de l'oxaliplatine. La préexposition des cellules à la thymoquinone suivie de la gemcitabine et de l'oxaliplatine résulte en une inhibition de croissance de 60 à 80 % en comparaison au 15 à 25 % lorsque les anticancéreux étaient utilisés seuls.[221]

g) Association à l'ifosfamide (HOLOXAN)

Sur un modèle de souris portant le carcinome ascitique d'Ehrlich, la thymoquinone améliore l'effet antitumoral de l'ifosfamide et atténue le syndrome de Fanconi⁴¹ provoqué par celui-ci chez des rats par un possible mécanisme antioxydant. [240]

h) Association avec le méthotrexate (NOVATREX – IMETH)

La thymoquinone protège contre la toxicité testiculaire induite par le méthotrexate chez des souris. En effet, le méthotrexate utilisé seul provoque une augmentation des capacités antioxydantes totales et l'activité de la MPO en comparaison avec le groupe de contrôle. De plus, du point de vue histologique, plusieurs atteintes apparaissent (dilatation de l'espace interstitiel, œdème, perturbation de l'épithélium séminifère et réduction des tubules séminifères). L'administration de la thymoquinone permet de réduire la capacité antioxydante totale et de prévenir l'augmentation d'activité de la MPO, tout comme elle remet en état les changements histologiques induits par le méthotrexate. [241]

⁴¹ **Syndrome de Fanconi** : trouble généralisé de la fonction tubulaire proximale rénale. Il associe acidose tubulaire proximale par fuite d'ions bicarbonates, perte de glucose, de phosphate, de citrates et d'acides aminés ainsi qu'une anomalie de la réabsorption tubulaire. Ces anomalies sont aussi associées à un phénomène de stress oxydatif. On suggère que la néphrotoxicité serait secondaire à l'action de métabolites de l'ifosfamide : l'acroléine et / ou le chloroacétaldéhyde.

Ainsi, la thymoquinone pourrait réduire les effets destructeurs du médicament sur le tissu testiculaire chez les patients traités par celui-ci.

i) Association avec l'oxaliplatine (ELOXATINE)

La préexposition de cellules pancréatiques humaines (HPAC et BxPC-3) à la thymoquinone potentialise l'effet cytotoxique de la gemcitabine et de l'oxaliplatine.[221]

j) Association avec le paclitaxel (TAXOL)

En combinaison avec le TNF, le paclitaxel ou la doxorubicine, la thymoquinone améliore l'apoptose des cellules KBM-5. [126]

k) Association à la radiothérapie ionisante

Il est montré que la thymoquinone augmente la sensibilité des cellules de carcinome du sein MCF-7 et T47D à la radiothérapie. Associée à une seule dose ionisante de 2,5 Gy, la thymoquinone exerce des effets cytotoxiques additionnels sur les deux lignées. L'apoptose est améliorée aussi avec une modulation du cycle cellulaire. Cette étude supporte l'idée de l'utilisation de la thymoquinone comme adjuvant pour des essais précliniques dans des chimio et radiothérapies anticancéreuses. [242]

l) Association avec le tamoxifène (NOLVADEX)

Chez des rates traitées par le tamoxifène, des atteintes hépatiques apparaissent. Globalement, ces effets se résument d'une part à une diminution des activités des enzymes antioxydantes et du GSH et d'autre part à une augmentation des enzymes hépatiques sériques ainsi que des atteintes tissulaires. La prise de différents extraits de graines dont celles de *N. sativa* atténue et corrige ces changements. [243]

La co-administration de thymoquinone et de tamoxifène résulte en une augmentation substantielle de l'apoptose des cellules cancéreuses du sein et en une inhibition marquée de leur croissance *in vitro* et *in vivo*. De façon synergique, l'association diminue l'expression de XIAP résultant en la liaison et en l'activation de la caspase 9 pour une cascade de réactions apoptotiques. De plus, elle interfère dans la survie cellulaire en inhibant la phosphorylation d'Akt. La combinaison régule négativement aussi l'expression d'effecteurs régulés en aval

par Akt comme Bcl-xL, Bcl-2 et induit l'expression de Bax, d'AIF, du cytochrome C et de p-27. [244]

m) Association avec le thalidomide

La thymoquinone potentialise l'effet apoptotique du thalidomide et du bortézomib sur les cellules U266 du myélome multiple.[184]

Les nombreuses publications sur les effets protecteurs de la thymoquinone contre la toxicité des médicaments anticancéreux suggèrent un rôle complémentaire possible celle-ci pour l'amélioration de la qualité de vie des patients cancéreux.

6. Récapitulatif des cas de cancers sensibles à la thymoquinone et à l' α -hédérine

Ainsi, l'existence d'une action anticancéreuse de *N. sativa* et de ses composés a pu être démontrée. La plante agit sur les lignées cellulaires de tumeurs cérébrales (Neuro 2a, U87...) [168-169, 189, 191, 198], du cancer du col de l'utérus (HeLa, KB-V1/Vb1...) [166, 216, 245-248], du colon (HCT-116, SW-626...) [152, 170, 249-250], du foie (HepG2) [162, 176, 251], des os (Sa-OS-2...) [152, 158, 194], du pancréas (PDA, HST766T...) [119, 127, 184, 190], du poumon (Hep-2) [154, 162-163, 252], de la prostate (LNCaP, PC-3...) [155, 167, 170], du sein (MCF-7, MDA-MB-231) [159, 165, 253-255]. Elle agit aussi sur le fibrosarcome (HT1080) [175, 200] et des lignées d'hémopathies malignes (HL-60, Jurkat...) [153, 160, 164, 182, 184, 186, 220, 246].

Chez l'animal, il y a des effets aussi sur le cancer du colon [187], de l'estomac [256], du foie [156, 257], de l'œsophage [249], de la peau [258], des poumons [249, 259], de la prostate [170], des reins [260] et du sein [161, 181].

7. Etude préclinique

Lors d'une étude de phase I, une première équipe rapporte l'absence de toxicité systémique significative chez des patients adultes avec des tumeurs solides ou avec des hémopathies malignes traités avec la thymoquinone. Ils montrent aussi que la dose journalière que le corps humain pouvait tolérer était de 2 600 mg de thymoquinone. [261]

D. Propriétés antiallergiques et actions sur le système respiratoire

1. Propriétés antihistaminiques

Au début des années 1990, dans une étude *in vitro*, la nigellone a inhibé, à faible concentration, la libération d'histamine par des mastocytes péritonéaux de rats. Elle a aussi inhibé les effets vasopresseurs de la molécule ainsi que de la sérotonine sur les muscles lisses trachéaux et de l'iléon. [112] Dans un modèle d'ulcère induit par l'éthanol provoquant l'augmentation de la concentration d'histamine dans la muqueuse gastrique, la prise d'huile végétale de *N. sativa* préalablement par les rats permettait de faire diminuer significativement la teneur en histamine avec un taux de protection de 53,56 % en comparaison avec le groupe témoin non traité par l'huile. [262] Ces études confirment une étude plus ancienne suggérant que d'autres composés de *N. sativa* : la thymoquinone et la thymohydroquinone pourraient avoir aussi des effets antihistaminiques. [263]

Concernant les mécanismes d'action envisagés, les auteurs partent sur l'idée que l'inhibition des canaux calciques pourrait être la cause de l'effet relaxant de *N. sativa* (actions anticholinergiques et antihistaminiques). Un second mécanisme serait une inhibition modérée du métabolisme enzymatique oxydatif qui contribuerait en partie à l'inhibition de sa libération.

2. Propriétés antiallergiques de *Nigella sativa*

a) *L'asthme allergique*

Sur un modèle d'asthme allergique de souris, les effets de *N. sativa* et du dexaméthasone (groupe contrôle) ont été étudiés. La plante utilisée 24 heures après une injection intratrachéale de conalbumine ⁴² réduit les taux d'IgG1, d'IgG2, des cytokines et l'inflammation pulmonaire. Ces effets furent équivalents à ceux du dexaméthasone, exception faite pour le taux d'IFN- γ . [264]

b) *La conjonctivite allergique*

Les effets de la thymoquinone ont été évalués sur des modèles de conjonctivites chez des souris exposées à l'ovalbumine. Chez ces souris exposées une augmentation des

⁴² *Conalbumine* : connue aussi sous le nom d'ovotransferrine, il s'agit d'une glycoprotéine du blanc d'œuf qui est utilisée comme allergène.

différents marqueurs de l'allergie (IgE, IgE spécifique de l'ovalbumine, recrutement des PNE, taux d'histamine, niveau d'expression d'ARNm et de cytokines) a été mise en évidence par comparaison à celles du groupe témoin. L'administration de thymoquinone réduit les symptômes oculaires, l'infiltration de cellules de l'inflammation dans la conjonctive, le sang et le liquide de lavage ophtalmique. De même, le recrutement des éosinophiles, le niveau des IgE, de l'histamine et des cytokines (IL-4, IL-5, IL-13) furent atténués. [114]

c) La diarrhée allergique

Dans une étude, des extraits de *N. sativa*, la thymoquinone et des agonistes κ et μ aux récepteurs aux opioïdes ont été testés sur des souris sensibilisées par l'injection intra gastrique d'ovalbumine afin de voir s'ils possédaient un effet soulageant dans ce modèle d'allergie alimentaire. Il a été montré que *N. sativa* et la thymoquinone diminuent les symptômes cliniques des diarrhées induites. Cette réduction des symptômes est accompagnée par la diminution de la numération mastocytaire ainsi que du MMCP-1 plasmatique, un marqueur de la dégranulation des mastocytes. Les auteurs émettent l'hypothèse que la thymoquinone pourrait être le composé à l'origine de l'effet bénéfique des extraits de *N. sativa* dans ce type d'allergie du fait de l'absence de résultat d'un extrait de la plante sans thymoquinone. La voie de signalisation des récepteurs aux opioïdes pourrait être aussi impliquée mais des recherches complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes sous-jacents. [265]

d) La rhinite allergique

La rhinite allergique est la maladie allergique chronique la plus commune, spécialement chez les enfants.

Dans une étude récente, 24 personnes furent sélectionnées au hasard à partir d'un groupe de 31 personnes atteintes de rhinite allergique due à la poussière et aux acariens et d'un groupe de contrôle composé de 8 personnes saines et volontaires. Ils furent traités spécifiquement contre l'allergène pendant 30 jours. Suite à ce mois de traitement, 12 des 24 patients et les 8 volontaires sains se sont vus donner une supplémentation orale en graines de *N. sativa* à raison de 2 grammes par jour pendant 30 jours. Les 12 patients restants continuèrent le premier traitement durant la même période. Quant aux 7 personnes non sélectionnées au départ, elles reçurent 0,1 mL de solution saline par voie sous-cutanée une fois par semaine en tant que traitement placebo.

Les activités phagocytaires et le taux de CD8 chez les patients traités par *N. sativa* sont augmentés, spécialement lors du second mois de traitement en comparaison des patients ne recevant que l'immunothérapie. Ainsi, les auteurs concluent leur étude en évoquant la possibilité d'utiliser les graines de *N. sativa* en adjuvant thérapeutique lors du traitement spécifique de la rhinite allergique. [266]

Dans une autre étude, ce sont 66 patients qui furent l'objet d'une évaluation clinique sur les effets de l'huile de *N. sativa* dans le traitement de la rhinite allergique. Au moyen d'un questionnaire, un observateur a pu renseigner la sévérité des symptômes du jour 0 au jour 30 de l'étude. Les résultats au jour 15 de celle-ci montre que *N. sativa* réduit la congestion, les démangeaisons et l'écoulement nasal de même que les éternuements, l'hypertrophie des cornets nasaux et la pâleur des muqueuses au cours des deux premières semaines de traitement. Sur seulement 6,1 % de la population étudiée, des PNE ont été retrouvés dans le mucus nasal. [267]

D'après ces deux études, on pourrait penser que *N. sativa* pourrait être utilisée dans le traitement de la rhinite allergique lorsque notamment les effets d'autres médicaments doivent être évités.

e) L'eczéma : essai chez l'homme

Une étude clinique randomisée, contrôlée, en double aveugle et menée sur 60 patients âgés de 18 à 60 ans a eu pour objectif de comparer les effets de *N. sativa*, de la bétaméthasone et un produit de la marque Eucerin sur la sévérité d'eczémas situés aux mains.

Les patients furent divisés en 3 groupes de 20 personnes recevant chacune un des traitements étudiés à raison de deux prises par jour durant 28 jours. Les observations ont porté sur les changements dans la sévérité et la qualité de vie des patients au jour 1, 14 et 28 via deux index : HECSI (*Hand Eczema Severity Index*) et DLQI (*Dermatology Life Quality Index*).

Les 19 personnes traités par *N. sativa* (pommade) qui ont terminé l'étude montrent une amélioration significative et plus rapide que chez les patients traités avec l'Eucérin. Le score DLQI est ainsi diminué en comparaison à l'Eucérin. Il ressortirait de l'étude que *N. sativa* aurait une certaine efficacité comparable à la bétaméthasone dans l'amélioration de la qualité de vie et la diminution de la sévérité de l'eczéma de la main.[268]

Le changement au sein de cette population mastocytaire pourrait donc être impliqué dans l'effet bénéfique de *N. sativa*. Nous avons déjà vu l'inhibition de la libération de l'histamine

de mastocytes péritonéaux de rat par la nigellone en réponse à l'activation antigène-spécifique. [112] De même lors de la protection d'ulcères gastriques, le traitement par *N. sativa* agissait par l'intermédiaire de la diminution du nombre de mastocytes gastriques. [97]

3. Actions sur le système respiratoire

a) Protection du tissu pulmonaire

Plusieurs études mettent en avant un effet protecteur de la part de *N. sativa* ou de la thymoquinone sur des atteintes du tissu pulmonaire. Les mécanismes impliqués ici mettent encore en avant les propriétés antioxydantes de cette plante.

Dans un modèle de rats de sepsis induit par ponction, le traitement par *N. sativa* diminue le taux de cytokines pro-inflammatoires sériques ainsi que les niveaux de LPO, l'activité de la MPO et les changements histopathologiques au niveau du tissu pulmonaire avec augmentation des niveaux de GSH et de l'activité de la SOD tissulaire. Via la possible réduction du stress oxydatif tissulaire et des cytokines sériques, *N. sativa* réduit fortement la mortalité induite par le sepsis. [269]

Dans un autre modèle de rat atteint d'hypertonie induite, le groupe traité par l'huile végétale de *N. sativa* présente des dommages tissulaires moindres avec des niveaux des GPx et de SOD préservés et de MDA et MPO plus bas que dans le groupe non traité. [270]

Dans un modèle de souris intoxiquée aux particules de diesel résultant en une inflammation et une perte de fonction pulmonaire, le prétraitement de celles-ci par la thymoquinone prévient les effets du toxique au niveau cardiovasculaire (diminution de la PAS, leucocytose, augmentation de l'IL-6 et diminution de la SOD). [271]

Enfin, dans un modèle de cochons d'Inde intoxiqués par du gaz moutarde, *N. sativa* prévient la réponse trachéale et l'inflammation des animaux avec un poids corporel maintenu et une diminution significative des PNN par comparaison avec le groupe ayant inhalé le gaz sans traitement associé. [272] Cet effet a été confirmé dans une étude ultérieure. [273]

b) Propriétés antiasthmatiques expérimentales de *Nigella sativa*

Plusieurs études menées ces dernières années sur *N. sativa* lui recherchant des propriétés notamment anti-inflammatoires ou antiallergiques, ont pu démontrer que cette plante pouvait aussi avoir une action dans le traitement de l'asthme.

Induction d'une bronchodilatation par mécanisme anticholinergique

Lorsque le système cholinergique est activé au niveau des bronches, l'acétylcholine va exercer des effets parasympathiques par fixation aux récepteurs muscariniques des muscles lisses, des vaisseaux et des glandes sécrétrices. Il s'en suit une bronchoconstriction, une hypersécrétion bronchique ou encore une vasodilatation. Des agents anticholinergiques peuvent alors avoir des effets bronchodilatateurs et spasmolytiques utilisables dans le traitement de l'asthme.

Une première étude au début des années 1990 a démontré une action anticholinergique de l'huile essentielle de *N. sativa* ainsi que de la thymoquinone sur un modèle de cochon d'Inde. En effet l'administration IV de l'huile a augmenté de façon dose-dépendante la fréquence respiratoire et la pression intra-trachéale des animaux. Ces effets furent antagonisés par des anticholinergiques (mépyramine, atropine ou réserpine) mais pas par l'indométacine, la diéthylcarbazine ou l'hydrocortisone. La thymoquinone, pour sa part, n'a pas augmenté la pression intra-trachéale des animaux. L'équipe attribua les effets observés à l'implication indirecte de mécanismes cholinergiques de type muscarinique. [274] Il est à noter qu'une autre étude comparant les effets de l'huile essentielle de *N. sativa* et la thymoquinone a permis d'observer des effets opposés pour cette dernière qui n'a pas d'action sur la fréquence respiratoire mais provoque une bronchoconstriction par augmentation de la pression intratrachéale. [3]

Dans une autre étude, la nigellone et la thymoquinone ont augmenté la fréquence de la clairance ciliaire (transport mucociliaire) et ont eu un effet antispasmodique, laissant ainsi penser une implication du système cholinergique. [275]

Induction d'une bronchodilatation par un mécanisme antihistaminique

L'histamine, en stimulant ses récepteurs H1, provoque au niveau des bronches la contraction des fibres musculaires lisses gênant ainsi la respiration.

Les auteurs d'une des premières recherches, dans les années 1990, concluaient aussi leur étude par une possible libération d'histamine via l'implication directe de mécanismes histaminergiques. [274]

Plus tard, dans une étude que nous avons déjà mentionnée, un extrait de *N. sativa* provoquait la relaxation dose-dépendante de jéjunum pré-contracté. Les contractions provoquées par le potassium étaient aussi bloquées, par une inhibition probable des canaux calciques, qui fut

confirmée par la suite. Dans une préparation trachéale, ce sont les contractions induites par l'histamine, le carbachol et le KCl qui furent inhibées par l'extrait avec la même hypothèse du blocage des canaux calciques, permettant ainsi d'observer une action spasmolytique et bronchodilatatrice. [276-277]

Induction d'une bronchodilatation par un mécanisme antileucotriènes

Durant l'asthme, des leucotriènes pro-inflammatoires sont libérés par les mastocytes et sont responsables d'un phénomène de bronchoconstriction. Dans l'asthme chronique, l'hyperréactivité est causée par les PNE qui sont attirés dans les bronchioles par les leucotriènes, notamment les LT_{B_4} .

L'effet de la thymoquinone fut recherché sur une préparation trachéale de cochon d'Inde. Les résultats ont montré que la molécule causait une diminution dose-dépendante de la tension musculaire lisse précontractée par le carbachol, ou par un cholinomimétique. Ces effets sont potentialisés par un prétraitement à la quinacrine, un inhibiteur de la phospholipase A2 et à l'acide nordihydroguaiarétique, un inhibiteur de la guanylate cyclase soluble. L'action de la thymoquinone n'est pas influencée ici par des prétraitements à l'indométacine (inhibiteur de la COX), au propranolol (inhibiteur non sélectif des récepteurs β -adrénergiques), ou encore à la théophylline (antagoniste des récepteurs de l'adénosine). Les effets presseurs de l'histamine et de la sérotonine sur les muscles de la trachée et de l'iléon sont inhibés par la thymoquinone. Les résultats de l'étude suggèrent que la relaxation provoquée par la thymoquinone se fait au moins en partie, par l'intermédiaire d'une inhibition des produits de la LO et aussi via un possible blocage des récepteurs à la sérotonine et à l'histamine. [278]

Comme nous l'avons vu précédemment, la thymoquinone est capable d'inhiber l'expression de la 5-LO (inhibition de la conversion de l'acide arachidonique en 5-HETE), l'enzyme principale dans la biosynthèse des LT. Dans l'asthme, ces médiateurs voient leurs niveaux augmentés dans les voies aériennes en réponse notamment à un allergène. Dans l'une des études *in vivo*, en plus d'inhiber la 5-LO et de réduire les taux de LT_{B_4} et de LT_{C_4} , la thymoquinone diminuait d'autres facteurs caractéristiques de l'inflammation des voies aériennes (cytokines Th2 [IL-4, IL-5, IL-13], liquide d'aspiration broncho-alvéolaire, PNE des tissus pulmonaires) démontrant ainsi un effet anti-inflammatoire dans des modèles animaux d'asthme expérimental. [116-117]

Etudes chez l'homme

Après ces diverses études *in vitro* et *in vivo*, trois études vinrent confirmer les effets observés et permirent d'entrevoir une utilisation de *N. sativa* chez l'homme comme elle l'est depuis des siècles pour le traitement de troubles respiratoires.

Dans une étude, l'effet prophylactique d'un extrait aqueux de *N. sativa* fut observé sur 40 victimes de guerres pendant 2 mois. Les symptômes respiratoires furent améliorés de même que les valeurs des différentes EFR (Epreuves Fonctionnelles Respiratoires). A la fin de l'étude, toutes les valeurs des EFR et des symptômes étaient significativement différents du groupe témoin. De plus, dans le groupe expérimental, l'utilisation d'inhalateur (β -agonistes, corticostéroïdes) était diminué à la fin de l'étude alors qu'elle ne l'était pas dans le groupe témoin. [279]

Une autre étude chez 29 patients asthmatiques de 3 mois a montré un effet prophylactique (symptômes, fréquence des symptômes, sévérité de l'asthme, sifflements respiratoires) d'extraits de *N. sativa*. Ici encore, le recours aux traitements conventionnels (β -agonistes, corticostéroïdes, théophylline) était diminué chez les patients traités par rapport au groupe placebo. [280] Continuant leur recherche, la même équipe compara les effets de cet extrait par rapport à ceux de la théophylline chez 15 patients asthmatiques. L'effet bronchodilatateur était semblable à celui de la théophylline (apparition et diminution de l'effet) alors que celui sur la fonction pulmonaire était inférieur. Une comparaison avec le salbutamol, a montré que les effets de celui-ci étaient plus puissants que ceux de l'extrait de Nigelle. Toutefois, l'effet antiasthmatique de *N. sativa* a bien été prouvé. [281]

E. Propriétés anti-infectieuses

1. Propriétés antivirales

Etude sur le cytomégalovirus murin (CMVM)

Le CMVM est un herpes virus qui provoque une maladie disséminée et mortelle chez les animaux immunodéprimés de la même façon que le CMVH le fait chez l'homme. Dans une étude *in vivo* chez la souris, l'huile de *N. sativa* a montré un effet antiviral contre l'infection au CMVM en supprimant la charge virale dans les organes cibles (rate : 23×10^3 contre 3×10^3 et foie : 45×10^4 contre 7×10^4), en augmentant le nombre de LT_{CD4+} , ainsi que le taux d'IFN- γ et la numération des macrophages. [282]

Etude chez des patients atteints d'hépatite C et non éligibles à la thérapie IFN- α /ribavirine

Trente patients atteints du virus de l'hépatite C et non éligibles à une thérapie associant IFN et ribavirine (contre-indication, refus ou contrainte financière) ont fait l'objet d'une étude menée en Egypte. Les facteurs d'exclusion de l'étude étaient : patients traités par IFN- α , infection par le virus de l'hépatite B ou I, carcinome hépatocellulaire, autres pathologies malignes, état de santé très grave ou l'absence de compliance au traitement. Dans cette étude, l'huile végétale de *N. sativa* a été administrée durant trois mois consécutifs à la dose de 450 mg trois fois par jour. Il en a résulté une amélioration de la charge virale, de la capacité totale antioxydante, de l'état clinique et du contrôle glycémique chez les patients diabétiques infectés par le virus. Les seuls rares effets indésirables ont été des douleurs épigastriques et des hypoglycémies qui n'ont toutefois pas affecté la compliance des patients. [283]

Case report d'un patient atteint du VIH

Un patient s'est présenté chez un phytothérapeute avec des antécédents de fièvre chronique, diarrhée, perte de poids et de multiples lésions prurigineuses papuleuses depuis une durée de 3 mois. L'examen direct révéla une perte modérée de poids et les examens de laboratoire (ELISA et Western blot) confirmèrent la séropositivité au VIH avec une charge virale de 27 000 copies/mL (ARN viral) et un taux de CD4 de 250 cellules/mm³. Le patient commença alors la prise d'une préparation de *N. sativa* à raison de 10 mL deux fois par jour pendant 6 mois. Il fut contacté tous les jours pour la surveillance des effets secondaires et l'efficacité des médicaments. La fièvre disparut au 5^e jour de traitement. La diarrhée et les lésions au 7^e et 20^e

jour respectivement. Au 30^e jour le nombre de CD4 avait diminué à 160 cellules/mm³ malgré une réduction de la charge virale (< 1000 copies/mL). Au 187^e jour de traitement, le taux de CD4 était remonté à 650 cellules/mm³ et la charge virale était alors indétectable. Plusieurs répétitions des tests VIH restèrent négatifs, sans virémie et avec un taux de CD4 normal 24 mois après l'arrêt du traitement phytothérapeutique. Ce cas reflète le fait qu'il y aurait des agents thérapeutiques possibles dans *N. sativa* susceptibles de contrôler de façon efficace l'infection au VIH. [284]

Les mécanismes de l'action anti-virale de *N. sativa* ne sont pour le moment pas connus.

2. Propriétés antibactériennes

Au milieu des années 1970, les premiers travaux d'El-Fataty par la méthode des disques permettaient de tester l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *N. sativa*. Il en ressortit une grande activité contre les bactéries gram-positif (*S. aureus*). [35, 76] L'action contre *S. aureus* a été retrouvée *in vitro* dans une autre étude avec des effets sur des bactéries gram-négatif (*P. aeruginosa*, *E. coli*). Une synergie avec plusieurs antibiotiques (streptomycine, gentamicine, spectinomycine, érythromycine, tobramycine, doxycycline, chloramphénicol, acide nalidique, ampicilline, lincomycine, sulphaméthoxazole-triméthoprime) a été démontrée [285] L'extrait méthanolique de *N. sativa* a exercé une forte inhibition sur *Streptococcus mutans*, ce qui permet de déduire une éventuelle action dans le traitement des caries et de la plaque dentaire qui se composent principalement de cette espèce bactérienne. [3, 286-287] L'huile végétale possède aussi une activité vis-à-vis de plusieurs souches de *Listeria monocytogenes*, supérieure à celle de la gentamycine, [3, 287-288] Dans d'autres études, ce furent sur des souches résistantes aux antibiotiques, telles que *V. cholera*, *E. coli*, *S. dysenteriae* et des souches de staphylocoques résistants à la méthicilline (SARM) que différents extraits de *N. sativa* se montrèrent efficaces. [8, 289-290]

Un extrait de *N. sativa* a éradiqué *in vivo* une infection sous cutanée à *S. aureus* chez des souris. [285]. Dans un modèle similaire, l'huile végétale a amélioré la guérison en réduisant l'infection locale, l'inflammation, la prolifération bactérienne, la numération leucocytaire et l'atteinte tissulaire. [291] Dans une autre étude, la thymoquinone a réduit la mortalité consécutive à un sepsis de 80-90 % et amélioré les profils des biomarqueurs des fonctions hépatiques et rénales. [292]

Chez l'homme, une étude s'est intéressée à l'effet de *N. sativa* sur l'éradication d'*H. pylori* chez des patients atteints de dyspepsie non ulcéreuse.

Celle-ci a été menée sur 88 patients adultes divisés en 4 groupes, entre 2007 et 2008, avec des symptômes dyspeptiques et infectés par *H. pylori* (confirmation histologique et par le test à l'uréase) :

- Clarithromycine, amoxicilline, oméprazole (n=23)
- 1 g de *N. sativa* + 40 mg d'oméprazole (n=21)
- 2 g de *N. sativa* + 40 mg d'oméprazole (n=21)
- 3 g de *N. sativa* + 40 mg d'oméprazole (n=23)

Le test négatif de l'antigène de la bactérie dans les selles quatre semaines après la fin du traitement était considérée comme une éradication d'*H. pylori*.

Sur les quatre groupes, l'éradication était de 82,6 ; 47,6 ; 66,7 et de 47,8 % respectivement. Dans tous les groupes, les symptômes de la dyspepsie ont été améliorés de façon similaire. Les graines de *N. sativa* possèdent donc bien une activité anti-*H. pylori*. [293]

H. pylori utilise l'uréase pour produire de l'ammoniaque capable de neutraliser l'acidité de l'estomac et ainsi de s'en protéger. Ainsi, l'activité de cette enzyme est essentielle à la colonisation d'*H. Pylori*. Dans une étude, l'activité inhibitrice de l'uréase a été examinée à partir de 20 plantes, dont *N. sativa*. Cette dernière se montra très efficace avec une CI₅₀ de moins de 59,10 µg/mL. [294]

3. Propriétés antifongiques

Dans les années 1970, El-Fatraty démontra une activité de l'huile essentielle de *N. sativa* contre les levures.[35, 76] Puis, à la fin des années 1980 montra que l'huile essentielle de *N. sativa* possédait une activité antifongique. Elle était active notamment sur *Aspergillus fumigatus*. [31] Plus tard, il fut montré que l'huile essentielle inhibait aussi fortement la croissance d'*A. parasiticus* à faible concentration. De même elle agissait sur la production d'aflatoxine [295] et restaurait les paramètres biologiques dûs au stress oxydant. [296]

Plusieurs études furent menées sur les effets de l'huile de *N. sativa* et de la thymoquinone sur des intoxications à l'aflatoxine-B1. Il s'agit d'une mycotoxine extrêmement toxique produite par *A. flavus* et *A. parasiticus* pouvant contaminer naturellement les aliments et provoquer des effets hépatotoxiques, carcinogènes, mutagènes et tératogènes chez l'animal.

Dans une étude chez le rat, l'intoxication à l'aflatoxine a montré de graves altérations dégénératives et nécrotiques au niveau hépatique et rénal avec des paramètres biochimiques

(ALAT, ASAT, créatinine, urée) supérieurs à ceux du groupe témoin. Le groupe traité par l'huile végétale de *N. sativa* durant l'intoxication montra alors des changements histopathologiques moindres.[297] Dans une autre étude, la thymoquinone diminua les marqueurs hépatiques et du stress oxydant en comparaison au groupe de contrôle recevant la toxine. De plus, le contenu hépatique en GSH fut restauré de même que l'architecture histologique du tissu. [298]

Sur les levures, *N. sativa* a tout d'abord montré des effets sur *C. albicans*. [76] Plus tard, dans une étude *in vivo* où *C. albicans* était injectée par voie *iv* à des souris puis a produit des colonies au niveau du foie, de la rate et des reins, le traitement par un extrait de *N. sativa* 1 fois par jour durant 3 jours, 24 heures après l'inoculation provoque un effet inhibiteur sur la croissance de l'organisme dans les organes étudiés. L'effet antifongique se ferait indirectement par l'augmentation de NO par les granulocytes et les monocytes. [3, 299] Dans une autre étude, l'huile essentielle de *N. sativa* montre une forte activité anti *C. zeylanoides*. [300]

N. sativa et la thymoquinone ont été étudié aussi sur huit espèces de dermatophytes : *Trichophyton rubrum* (4 espèces), *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* et *Microsporum canis*. Toutes ces espèces subirent une inhibition de croissance et, au vu des CMI de la thymoquinone, les auteurs concluent que la molécule pourrait être responsable de l'activité antidermatophyte de *N. sativa* ou que celle-ci pourrait être une source de composé ayant cette activité. [301]

4. Propriétés antiparasitaires

a) Le paludisme

Le paludisme, une maladie transmise par les moustiques est mondial. Il a été estimé qu'il y avait plus de 300 millions de cas de paludisme chaque année dans les pays en développement, en particulier en Afrique sub-saharienne (90%). Le paludisme tue plus d'un million de personnes par an, principalement les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes. Dans tous les pays d'endémie palustre, les plantes sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de la maladie. Avec le besoin urgent de développer de nouveaux médicaments sûrs et efficaces contre le paludisme, des molécules ont été extraites des plantes. Les exemples sont nombreux : la quinine à partir du genre *Cinchona* ou encore l'artémisine de la plante chinoise *Artemisia annua*.

In vitro, *N. sativa* provoque plus de 97 % d'inhibition de la croissance des schizontes de *Plasmodium falciparum* à une concentration $\leq 5 \mu\text{g/mL}$ et 100 % d'inhibition à une concentration dix fois plus grande. [302]

In vivo, sur des souris infectées par *Plasmodium yoelli nigeriensis*, *N. sativa* atténue le stress oxydant consécutif à l'infection (diminution du MDA sérique et hépatique). De plus, les enzymes antioxydantes sont restaurées à un niveau proche de la normale. Dans l'élimination du parasite et la restauration des marqueurs biochimiques, *N. sativa* est plus efficace que la chloroquine suggérant en conséquence que ses graines, de par leurs propriétés antioxydantes, pourraient être un bon agent de phytothérapie dans le traitement du paludisme. [303]

Dans la figure ci-dessous (fig. 18), nous pouvons observer le cycle de reproduction de l'agent du paludisme.

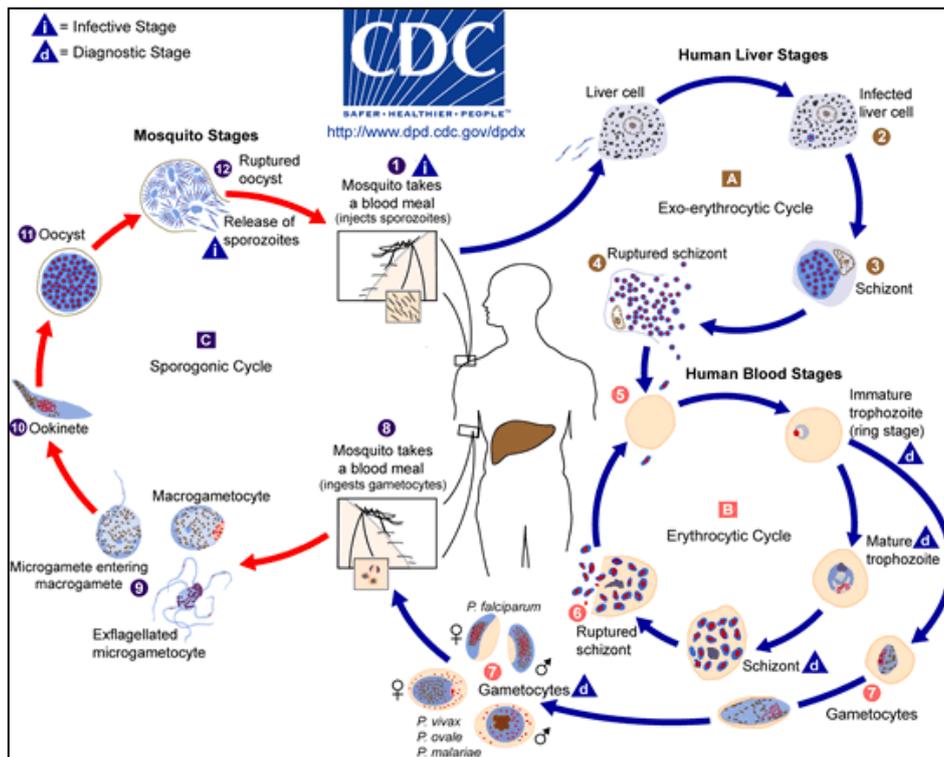


Figure 20 - Cycle de reproduction du *Plasmodium*

b) Les plathelminthes (vers plats)

Schistosoma mansoni

La schistosomiase, une maladie tropicale, est endémique dans le tiers monde qui atteint l'homme et les animaux. Le premier stade de développement de *S. mansoni* est la miracidie qui va vivre à l'intérieur d'un hôte intermédiaire : *Biomphalaria alexandrina*, un escargot. A

l'intérieur de celui-ci, les miracidies sont transformées en sporocystes mère qui se développent en sporocystes fille qui à leur tour donne des cercaires matures. L'infection est causée par ces derniers qui pénètrent dans la peau de l'hôte final. Leur tête est transformée en une larve d'endoparasites, les schistomules (fig. 19).

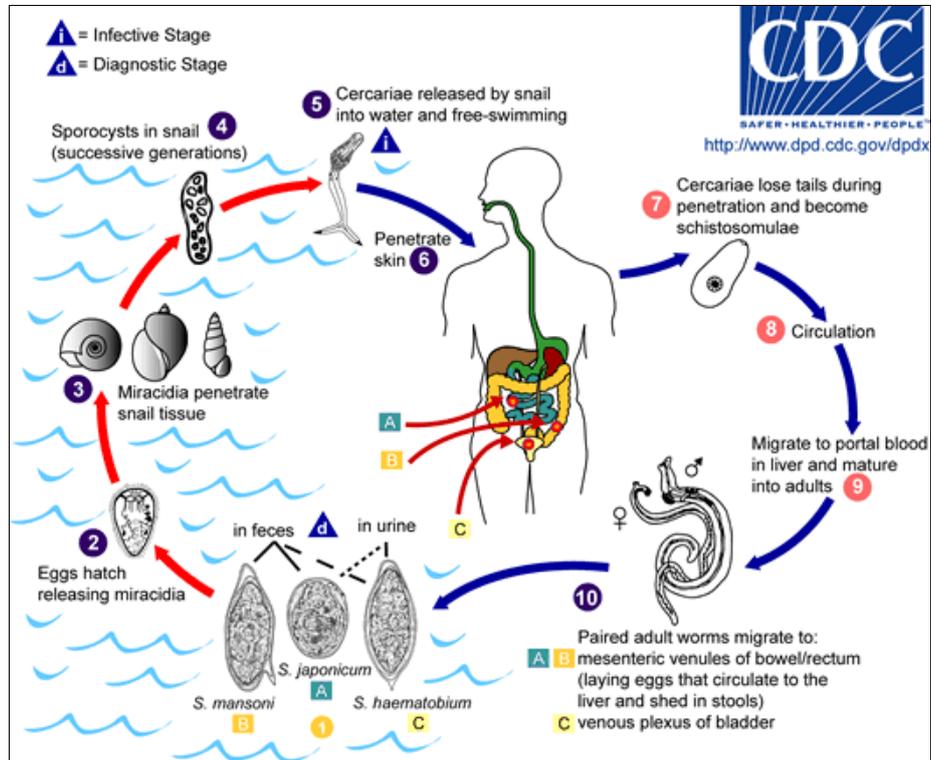


Figure 21 - Cycle de développement de *Schistosoma*

La protection contre cette maladie se fait par l'intermédiaire de l'immunité cellulaire et humorale. Bien que les essais de vaccins aient été testés, le traitement par le praziquantel (BILTRICIDE) est encore le seul choix thérapeutique possible pour l'homme. Hélas, le traitement à long terme a permis de générer des parasites résistants à la molécule. Le développement de nouvelles drogues alternatives est maintenant urgent.

Différents extraits de *N. sativa* exercent des effets biocides sur chacun des stades de développement de *S. mansoni* (miracidie, cercaire et vers adultes) avec une action inhibitrice sur la ponte des œufs. [304-305] Cet effet est aussi retrouvé *in vivo* chez des souris infectées par le vers. En effet, le traitement de celles-ci par l'huile végétale de *N. sativa* permet de diminuer le nombre de vers dans le foie et l'intestin, avec une action encore plus prononcée lorsque le praziquantel était utilisé en association. Dans cette étude-ci, les différents paramètres biochimiques étaient partiellement corrigés (ALAT, γ -GT, PAL, albumine sérique). [306]

Concernant les mécanismes d'actions évoquées dans les différentes études, nous retrouvons :

- Diminution de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, GPx, GR) des vers adultes les protégeant contre l'hôte [304, 307]
- Diminution de l'activité des enzymes de la voie des pentoses phosphates (HK et G6PDH) nécessaires à la survie des vers adultes dans l'hôte [304]
- Modulation de la réponse immune

Un dernier point concernant l'infection à *S. mansoni* est l'effet de celui-ci en tant qu'agent cytogénétoxicque provoquant des aberrations chromosomiques *in vitro* et *in vivo*. Le traitement par un extrait de *N. sativa* ou par la thymoquinone permet de réduire la fréquence des délétions et des tétraploïdies en comparaison avec des valeurs de contrôle. [308] Cet effet concorde avec les effets anticlastogéniques de la thymoquinone retrouvés par l'équipe de Badary dans l'intoxication de souris au benzo[a]pyrène. [309]

Cestodes

L'effet des graines de *N. sativa* a été étudié chez des enfants infectés par des cestodes. L'administration avec le niclosamide (TREDEMINE) réduit la quantité des œufs aux jours 7 et 15. Aucun effet indésirable n'a été constaté dans l'étude. [310]

c) *Les nématodes (vers ronds)*

L'étude de l'effet prophylactique et thérapeutique de l'huile de *N. sativa* a été effectuée soit avant ou soit après l'infection de rats par *Trichinella spiralis*. L'huile montre un effet préventif sur les vers adultes et sur la quantité de larve dans le muscle. La production d'anticorps est augmentée pendant le cycle de vie de ce parasite.[311]

L'effet antiparasitaire de *N. sativa* a été recherché sur *Aspicularis tetraptera*. Il en résulte une réduction du parasite et de ses œufs. L'équipe concluait que l'effet de *N. sativa* était lié à sa stimulation du système immunitaire. [312]

In vitro, l'extrait d'huile de *N. sativa* désorganise sévèrement la cuticule de *Toxocara vitulorum* adulte, laissant entendre aux auteurs que l'huile pourrait offrir une alternative convenable et moins onéreuse aux vermifuges. [313]

L'étude de l'effet d'un extrait de *N. sativa* et d'albendazole (ZENTEL) sur des souris infectées par *Toxocara canis* a été entreprise. Seule ou en association, *N. sativa* (100 ou 200

mg/kg) réduit le degré d'inflammation et de nécrose, conduisant à une réduction du pourcentage de PNE et à une diminution des niveaux des enzymes hépatiques.[314]

5. Action insecticide

Nous retrouvons une action insecticide de l'huile de *N. sativa* dans les pratiques traditionnelles. Les études de différentes huiles essentielles et de leurs actions insecticides, sur la ponte et l'incubation des œufs, et sur l'inhibition du développement de *Callosobruchus chinensis*, une espèce de scarabée, ont été évaluées. En fumigation, ces huiles, dont celle de *N. sativa* qui était la plus efficace (DL₅₀ la plus basse) provoquent la mort des scarabées adultes ainsi que des larves. Lorsque les huiles étaient fumigées à des concentrations sous-létales, elles réduisent la ponte et l'incubation des œufs, la formation de chrysalide et l'émergence d'une génération F1. L'effet toxique et les effets inhibiteurs sur le développement peuvent être dus à la suffocation et à l'inhibition d'une variété de processus de biosynthèse des insectes dans leurs différents stades de développement. [315]

F. Propriétés antidiabétiques

Le diabète est une maladie chronique qui se produit lorsque le pancréas ne synthétise plus assez d'insuline, et/ou lorsque le corps ne peut plus utiliser efficacement l'insuline. L'hyperglycémie est un effet commun du diabète non contrôlé, qui au fil du temps conduit à de graves dommages sur de nombreux organes, en particulier les nerfs, les reins et les vaisseaux sanguins. L'OMS estime que plus de 347 millions de personnes sont atteintes de diabète dans le monde. Ce nombre de décès lié au diabète pourrait augmenter de plus de 50 % au cours des 10 prochaines années et la maladie pourrait devenir la 7^e principale cause de décès d'ici 2030. [316] Les protocoles thérapeutiques pour les patients atteints de diabète de type II incluent régimes, exercices, agents hypoglycémiques oraux et/ou insuline. Depuis des centaines, voire des milliers d'années, un nombre très important de plantes de par le monde ont aussi été utilisées pour traiter cette maladie. Les effets hypoglycémiques de ces plantes sont exercés par plusieurs mécanismes, tel que la stimulation de la production d'insuline, le renforcement de la sensibilité à l'insuline ou encore l'inhibition de l'amylase intestinale. Concernant *Nigella sativa*, une trentaine d'études ont été menées ces dernières années dans le but d'élucider ses différentes actions dans le traitement du diabète.

1. Observations de l'action antidiabétique de *N. sativa*

Plusieurs études rapportent systématiquement de *N. sativa* des effets hypoglycémisants chez des animaux normaux et dans divers modèles animaux de diabète. La plupart des études sont pratiquées sur des animaux normaux ou modèles de diabète de type I ou à partir de cellules en culture. [317-323]

Une étude en 2010 a été menée en utilisant les graines de *N. sativa* comme adjuvant thérapeutique en association avec le traitement antidiabétique de patients diabétiques de type 2. Un total de 94 patients a été recruté puis ont été divisés au hasard en trois groupes de dose. Les capsules contenant *N. sativa* ont été administrées oralement aux doses de 1, 2 et 3 g/j pendant une durée de 3 mois. L'effet de la plante sur le contrôle glycémique a été évalué par la mesure de la glycémie à jeun, de la glycémie postprandiale et par la mesure de l'hémoglobine glyquée HbA1c. Le peptide-C sérique ainsi que les modifications du poids corporel ont aussi été mesurés lors de l'étude. *N. sativa* dosée à 2g/j provoque une diminution significative des paramètres mesurés sans changement particulier au niveau du poids. A 4, 8 et 12 semaines, la glycémie à jeun est réduite respectivement à une moyenne de 45, 62 et 56

mg/dL. L'HbA1c est réduit de 1,52 % à la fin des 12 semaines de traitement. La résistance de l'insuline est réduite significativement aussi tandis que la fonction des cellules β est augmentée à la fin de l'étude. A la dose d'1 g/j, *N. sativa* montre une tendance à l'amélioration dans tous les paramètres, mais elle n'était pas statistiquement significative. Toutefois, aucune augmentation de la réponse bénéfique à la dose de 3 g/j est observée. Les trois doses de *N. sativa* utilisées dans l'étude n'ont pas porté atteinte aux fonctions rénales et hépatiques. Ainsi chez l'homme, *N. sativa* pourrait être un adjuvant bénéfique chez les patients diabétiques de type II traités par antidiabétiques oraux. [324]

2. Mécanismes d'actions antidiabétiques

a) Au niveau du foie : diminution de la néoglucogénèse

Cette hypothèse est émise lorsque, sur l'étude d'hépatocytes isolés, il est montré une diminution significative de la production de glucose à partir des précurseurs de la néoglucogénèse (alanine, glycérol, lactate) chez des animaux traités par l'huile de *N. Sativa* en comparaison à des animaux non traités. [325]

In vivo, sur *Meriones shawi*, l'effet de l'extrait éthanolique de *N. sativa* a été évalué après le développement d'un diabète de type II par l'animal. Les animaux ont été divisés en 4 groupes (contrôle normal, contrôle diabétique, traités avec *N. sativa* 2 g eq de plante/kg et contrôle positif avec traitement par la metformine 300 mg/kg). *N. sativa* et la metformine ont été administrés quotidiennement par gavage intragastrique durant 4 semaines. A la fin de l'étude, un test oral de tolérance au glucose (OGTT *Oral Glucose Tolerance Test*) s'est déroulé pour estimer la sensibilité à l'insuline. Les animaux traités par *N. sativa* montrent une normalisation progressive de leur glycémie (à partir de la 3^e semaine de traitement), quoique moindre que ceux traités par la metformine (la 1^{ère} semaine). La diminution de la glycémie par *N. sativa* est associée à une diminution significative de la résistance à l'insuline comme le montre la réponse à l'OGTT et par la diminution de l'aire sous la courbe résultante. [326]

Dans cette même étude, *N. sativa* stimule la phosphorylation *in vitro* sur des lignées cellulaires et *in vivo* dans le foie de l'acétyl coenzyme A carboxylase (ACC). Cela a pour conséquence de réduire la lipogénèse hépatique.

b) Au niveau du pancréas : augmentation de la sécrétion d'insuline et protection des cellules β

En présence de glucose, la libération d'insuline est augmentée significativement dans les îlots pancréatiques isolés de rats par l'addition d'extrait de *N. sativa*. [321] D'un autre côté, *N. sativa* augmente la régénération des cellules β pancréatiques et les protègent des effets de la streptozotocine. [94, 320] Puis une autre étude *in vitro* démontre clairement que *N. sativa* améliore la prolifération des cellules β et augmente la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose. [327]

N. sativa pourrait aider au maintien des cellules pancréatiques et donc à l'atténuation de la progression du diabète.

c) Au niveau du muscle : augmentation de la synthèse et de la translocation de GLUT-4

Les protéines GLUT-4 (*Glucose transporter type 4*) sont le sujet de régulation transcriptionnelle qui permet leur synthèse accrue avec pour résultante une contribution dans la réduction de l'hyperglycémie.

Une étude rapporte que *N. sativa* stimule l'ACC, un substrat de la voie de signalisation de l'AMPK, dans le muscle squelettique *in vitro*. *In vivo*, il apparaît que *N. sativa* augmente aussi la phosphorylation de l'ACC dans les tissus du muscle squelettique. Celle-ci réduit son activité et cela résulte en une augmentation de l'oxydation des acides gras dans le muscle. Ces effets sur le métabolisme lipidique peuvent sous-entendre la tendance qu'a *N. sativa* à réduire les triglycérides (TG) plasmatiques et tissulaires. [322, 328]

Il a été montré que l'activation de la voie de l'AMPK peut mener à l'augmentation de la synthèse de GLUT-4. [329]

Ces résultats confirment que *N. sativa* exerce une action de sensibilisation à l'insuline en améliorant la phosphorylation de l'ACC et l'expression musculaire du transporteur GLUT-4.

Ces différents mécanismes évoqués sont résumés dans la figure suivante (fig. 20).

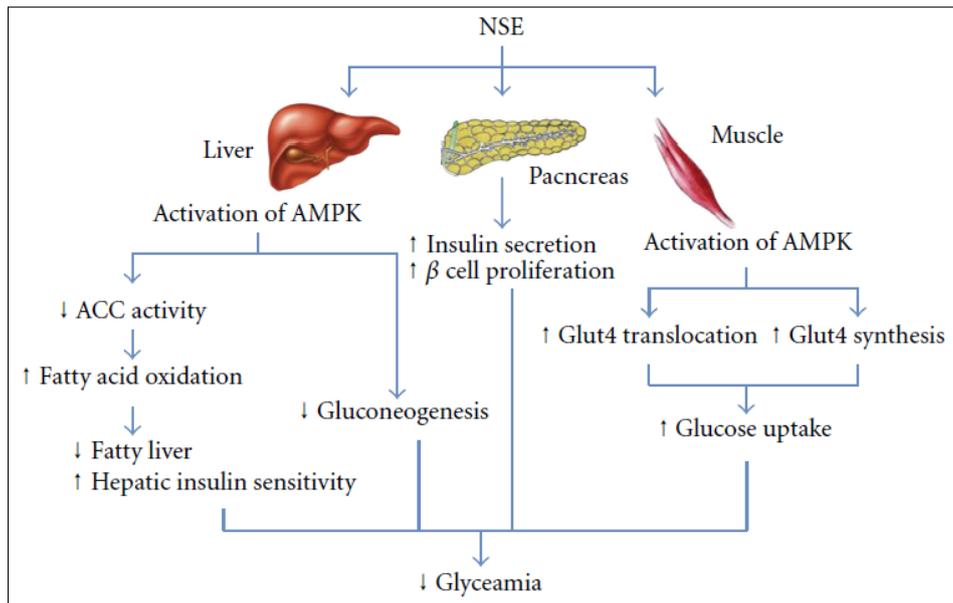


Figure 22 - Actions hypoglycémiques de *N. sativa*

d) *Au niveau de l'intestin : diminution de l'absorption du glucose*

Une étude concernant les effets d'extraits aqueux de *N. sativa* sur l'absorption intestinale du glucose *in vitro* et *in vivo* permet d'inclure ce mécanisme d'action dans l'effet hypoglycémique reconnue de cette plante.

Les résultats de l'étude démontrent que le prétraitement *in vitro* de la muqueuse intestinale des rats induit une inhibition dose-dépendante de l'absorption du D-Glucose Na⁺-dépendante (CI₅₀ proche de 10 pg/mL).

SGLT1 (*Sodium/GLucose coTransporter 1*- voir fig. 21) est le transporteur majeur du glucose de la muqueuse intestinale (environ 10% de réabsorption intestinale et 90 % de réabsorption rénale). Ainsi, il y a un intérêt montant sur cette famille de transporteur afin de contrôler la glycémie normale à partir du glucose exogène. La modulation de l'activité de SGLT1 par des peptides digestifs comme la leptine ou des neuropeptides comme les orexines pourrait constituer un signal périphérique pour l'hypothalamus afin d'ajuster rapidement la glycémie. Dans ce contexte, l'extrait aqueux de *N. sativa*, à basses concentrations, est capable de contrôler rapidement l'activité de ce transporteur du côté de la lumière intestinale.

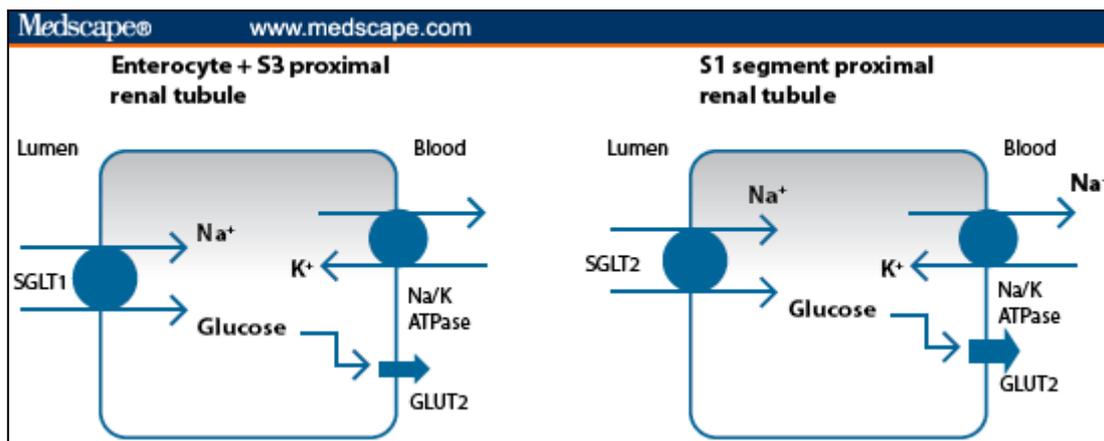


Figure 23 - Mode d'action de SGLT1[330]

La modification de la glycémie dans les tests d'hyperglycémie provoquée oralement reflète l'activité de SGLT1. Après l'administration aiguë de *N. sativa*, aucun effet indésirable n'est apparu et après le traitement chronique c'est une réduction de la réponse globale qui est observée de façon aussi efficace qu'avec la metformine, l'antidiabétique oral de référence. Ces résultats confirment donc la réduction du transport intestinal *in vivo* et sont compatibles avec la sensibilité accrue à l'insuline observée précédemment. [331] Dans l'étude, il est aussi constatée que l'extrait aqueux de *N. sativa* affecte directement l'absorption intestinale du glucose de manière dose-dépendante et à des doses très basses. Pris ensemble, ces considérations amènent à croire que cette inhibition d'absorption représente un composant important par lequel *N. sativa* réduit la glycémie. [332]

NB : SGLT2 étant responsable de la majeure partie de la réabsorption du glucose, il devient alors une cible prometteuse pour le développement de médicament. Ainsi, la dapagliflozine FORXIGA⁴³, capable d'inhiber sélectivement SGLT2, pourraient être alors utiles pour le traitement du diabète. [330] [333]

3. La neuropathie diabétique

Les effets bénéfiques possibles de *N. sativa* et de la thymoquinone sur des changements histopathologiques au niveau du nerf sciatique de rats diabétiques ont été étudié. Les traitements provoquent une vive diminution au niveau de la glycémie élevée, et une augmentation des concentrations sériques basses d'insuline. L'évaluation histologique des tissus des animaux traités montre moins d'altérations morphologiques. L'atteinte de la gaine

⁴³ **FORXIGA** : bien qu'ayant une AMM européenne, l'Agence Américaine du Médicament (FDA) l'a retiré du marché en raison d'une balance bénéfices/risques défavorable.

de myéline est diminuée significativement. Les caractéristiques ultrastructurales des axones montrent des améliorations remarquables. Les auteurs suggèrent que des recherches précliniques sur l'utilité de *N. sativa* et de la thymoquinone pourrait mettre en avant son utilité en tant que potentiel traitement de la neuropathie périphérique chez des rats diabétiques. [334]

4. La néphropathie diabétique

La réponse de la néphropathie diabétique à la thymoquinone a été évaluée chez 60 rats adultes divisés en trois groupes : contrôle, diabétiques non traités et diabétiques traités par la thymoquinone. Les rats diabétiques montrent des changements morphologiques au niveau des glomérules et des tubules rénaux avec l'expression immunohistochimique de marqueurs mésenchymateux comme Fsp1, desmine et MMP-17 ainsi que la disparition du marqueur épithélial ZO-1 dans les glomérules rénaux. Le traitement avec la thymoquinone atténue significativement les changements morphologiques et immunohistochimiques chez ces rats avec un diabète induit par la streptozotocine (STZ). Ainsi, il est montré *in vivo* que la thymoquinone possède des effets protecteurs sur la néphropathie diabétique expérimentale. [335]

5. Le diabète gestationnel

Les effets de la thymoquinone ont été étudiés sur le développement embryonnaire chez des souris diabétiques. Les pourcentages de malformations et de résorption fœtale chez les souris traitées seulement avec la STZ étaient de 26,4 et de 27,9 % respectivement, en comparaison aux 1,8 et 2,5 % observés dans le groupe de contrôle. Les souris ayant reçues à la fois la STZ et la thymoquinone montrent 16,37 % de malformations et 18,39 % de résorption fœtale. De même, les concentrations de MDA et de GSH furent diminuées dans le groupe STZ mais augmentées dans le groupe traité par la thymoquinone. Il semblerait alors que la thymoquinone puisse inhiber le taux de malformation embryonnaire chez les souris diabétiques durant leur grossesse en réduisant les taux de radicaux libres. La question de l'utilité de la thymoquinone chez la femme enceinte diabétique est alors posée par les auteurs de la recherche.[336]

6. L'insulino-résistance dans la thérapie antirétrovirale hautement active (HAART)

La thérapie antirétrovirale hautement active (*HAART : Highly Active Anti-Retroviral Therapy*) a considérablement réduit le taux de mortalité chez les patients VIH-1 positif. Cependant, à long terme, la thérapie est associée à un syndrome métabolique qui se manifeste par une dysfonction cardiovasculaire, une lipodystrophie et un syndrome d'insulino-résistance (SIR). L'inclusion des inhibiteurs de protéases dans la thérapie HAART est liée à l'induction du SIR. Bien que plusieurs mécanismes moléculaires sur les effets des inhibiteurs de protéases sur l'action de l'insuline ont été avancés, les effets délétères sur la production d'insuline par les cellules β -pancréatiques n'ont pas été entièrement étudiés et les stratégies thérapeutiques pour améliorer la dérégulation insulino-résistante n'ont pas été ciblées.

Dans une étude, l'exposition à plusieurs inhibiteurs de protéase (nelfinavir 5-10 μ M, saquinavir 5-10 μ M et atazanavir 8-20 μ M) diminue la sécrétion d'insuline induite par le glucose dans les cellules β pancréatiques. Le nelfinavir, utilisé seul ou en combinaison dans un HAART cause aussi un stress oxydant. Ce dernier est alors inhibé par la thymoquinone (2,5 μ M). La production d'insuline est aussi rétablie dans les cellules exposées à l'huile de *N. sativa* et à la thymoquinone. [337] Des rats ont été soumis à un HAART pendant 7 mois durant lesquels les effets protecteurs de l'huile végétale de *N. sativa* (400 μ g/kg) ont été examinés. Les antirétroviraux (nelfinavir 200 mg/kg, zidovudine 50 mg/kg et éfavirenz 20 mg/kg) ont été incorporés dans leur repas avec ou sans *N. sativa*. Dans le groupe soumis à HAART, une augmentation significative du taux d'insuline et du peptide C apparaît. Quand les rats sont traités simultanément avec l'huile de Nigelle, cette hyperinsulinémie diminue. De même, les rats soumis à HAART voient la taille de leurs îlots de Langerhans diminuée, ce qui n'est pas observé chez les rats non exposés. Ainsi, l'incorporation d'huile de *N. sativa* dans la thérapie pourrait prévenir ces effets délétères. [338]

G. Actions sur le système cardiovasculaire

1. Actions au niveau du profil lipidique

a) Observations des effets de *N. sativa* sur le profil lipidique

Plusieurs études ont permis l'observation d'effets favorables de la part de *N. sativa* sur le profil lipidique.

Tout d'abord chez l'animal, il apparaît que l'utilisation de la poudre de *N. sativa*, de son huile végétale, de différents de ses extraits et de la thymoquinone permet de diminuer les niveaux de triglycérides, d'HDL, du LDL, du cholestérol total. [339] [340] [341-343] Une étude chiffre la diminution du cholestérol sérique chez des rats normaux à 15,5 % et des niveaux de TG à 22 %. [344-345]

Puis, chez l'homme, plusieurs études sur différentes populations (hypercholestérolémiques, sains, diabétiques, hypertendus, femmes ménopausées, surpoids) parviennent aux mêmes conclusions que celles menées chez l'animal. [346-355]

a) Mécanismes d'action hypolipémiants envisagés

Ainsi, l'effet hypolipémiant de *N. sativa* est bien réel. Il ne semble, cependant, pas dû à une seule composante mais plutôt à l'action synergique de ses différents composants : la thymoquinone, ses différents stérols, ses flavonoïdes et son riche contenu en acides gras polyinsaturés. [66]

Les mécanismes d'action mis en jeu ne sont cependant pas expliqués. Concernant l'action d'un composé, seule une activité de stimulation du métabolisme lipidique équivalente à celle du clofibrate, un agoniste du PPAR- α , a été montrée avec les alcaloïdes de *N. sativa*. [356-357]. Dans une étude *in vitro* sur les hépatocytes HepG2 et les cellules intestinales Caco-2, des extraits de *N. sativa* augmentent la sécrétion de l'apoprotéine A1. Le mécanisme évoqué est l'amélioration des expressions du PPAR- α /RXR α . [358]

L'inhibition de la synthèse *de novo* du cholestérol par la réduction de l'activité hépatique de la HMG-CoA réductase et la stimulation de l'excrétion des acides biliaires qui contribuent à la réduction des taux de cholestérol sérique sont des mécanismes envisagés pour expliquer l'effet hypolipémiant de la plante.

On peut aussi expliquer cet effet hypolipémiant par l'action de la thymoquinone qui, *in vitro*, régule les gènes impliqués dans le métabolisme du cholestérol. [359]

Des mécanismes antioxydants sont aussi envisagés. [339-340, 347, 360]

*b) Potentiel anti-athérogène de *N. sativa**

Parmi les conséquences bénéfiques de l'effet hypolipémiant de *N. sativa*, nous retrouvons ainsi son potentiel antiathérogène.

Chez le lapin, la prise de graines de *N. sativa* (sous forme de poudre) ou de son huile végétale permet d'une part d'améliorer le profil lipidique, et d'autre part d'inhiber significativement la formation de la plaque d'athérome comme le montre l'examen de l'intima aortique à la fin des 8 semaines d'étude. [361] De par sa capacité à réduire les médiateurs pro-inflammatoires sécrétés par les macrophages, l'huile végétale de *N. sativa* interviendrait dans la régulation de la différenciation des monocytes en macrophages, les empêchant ainsi d'absorber les LDL oxydés pour éviter qu'ils deviennent des cellules spumeuses dans la paroi des vaisseaux sanguins. La réponse inflammatoire locale est alors réduite et permettrait de réduire la formation de la plaque d'athérome. [362]

D'autres mécanismes mettent en avant des effets inhibiteurs sur l'agrégation plaquettaire et sur la coagulation sanguine de la part de *N. sativa* :

- Le thymol, le carvacrol et le 2-(2-méthoxypropyl)-5-méthyl-1,1,4-bénédiol isolés d'un extrait de l'huile végétale de *N. sativa* se montrent plus puissants que l'aspirine comme agents antithrombotiques.[363]

- L'huile végétale module la balance fibrinolyse/thrombogénèse du fait de l'augmentation temps-dépendant en t-PA sur les cellules endothéliales en culture. [364]

La thymoquinone prévient aussi les dommages du tissu aortique, par un mécanisme antioxydant [365]

2. Actions sur la fréquence cardiaque et la pression sanguine

Des résultats controversés ont été rapportés concernant les actions cardiovasculaires de *N. sativa* et de ses principes actifs. Certaines études ne signalent aucun effet sur la pression artérielle chez l'animal ou chez l'homme, tandis que d'autres montrent une diminution dose-dépendante de cette pression artérielle ainsi que de la fréquence cardiaque chez des rats

normaux ou hypertendus spontanément. [352, 366-369] Dernièrement, une étude randomisée, en double aveugle avec contrôle placebo chez l'homme a montré que l'administration de 5 mL (2 fois 2,5 mL/j) d'huile végétale de *N. sativa* sur 70 volontaires sains pendant 8 semaines baissait les pressions artérielles systoliques et diastoliques sans aucun effet indésirable. [370]

a) Action antihypertensive centrale

L'huile essentielle et la thymoquinone injectées en intraveineuse diminuent de façon dose-dépendante la pression artérielle et la fréquence cardiaque.

Ces deux effets ont été inhibés par un antagoniste des récepteurs à la sérotonine et à l'histamine (cyproheptadine) et par un antagoniste des récepteurs cholinergiques M (atropine). [366, 371]

Par ailleurs, l'huile essentielle de *N. sativa* sans thymoquinone réduit la pression sanguine ainsi que la fréquence cardiaque. Mais ici, cet effet hypotenseur n'est pas neutralisé par l'atropine ou la cyproheptadine. Par contre, il l'est par l'hexaméthonium (un antagoniste des récepteurs nicotiques N ganglionnaires), la réserpine (antagoniste adrénergique), suggérant un mécanisme impliquant les récepteurs nicotiques. En outre, la destruction de la liaison entre le centre vasomoteur dans le bulbe rachidien et les préganglions sympathiques empêche les changements cardiovasculaires induits par *N. sativa*. Par conséquent, les effets dépresseurs cardiaques et hypotenseurs de *N. sativa* semblent se faire par l'intermédiaire d'un mécanisme central impliquant le centre vasomoteur dans le bulbe rachidien et le flux sympathique en périphérie.

L'inaptitude de l'indométacine, de la mépacrine, de l'hydrocortisone, de la mépyramine, de la ranitidine et du bleu de méthylène à affecter les effets dépresseurs cardiovasculaires induits par *N. sativa* suggère un mécanisme d'action ne mettant en jeu ni les eicosanoïdes, ni les histaminergiques, le PAF ou encore des mécanismes induits par le NO. [372]

L'ensemble de ces résultats suggère que l'huile essentielle de *N. sativa* peut être utilisée comme médicament antihypertenseur d'action centrale, en conformité avec son usage traditionnel.

b) Action diurétique antihypertensive

Cet effet diurétique est retrouvé dans une étude menée chez des rats hypertendus chez lesquels l'extrait de graines de *N. sativa* augmente la diurèse d'environ 16 % en comparaison

au furosémide (5 mg/kg) qui l'augmente de 30 %. En accompagnement de cet effet diurétique, nous retrouvons une augmentation de l'élimination des ions chlorures, sodiques et potassiques ainsi que de l'urée. L'hypertension, quant à elle, est diminuée de 22 %.[367]

Une autre étude aboutit aux mêmes résultats, en incluant une augmentation du taux de filtration glomérulaire, indépendante du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA). [373]

c) Inhibition calcique antihypertensive

Cette action est due, au thymol contenu dans l'huile essentielle de *N. sativa*. [276, 374]

Il s'agit de l'hypothèse retenue après que le thymol ait montré une relaxation dose-dépendante de l'aorte isolée de rat. Cette dernière pourrait être due à une inhibition de la libération des ions calciques à partir du réticulum sarcoplasmique, à une sensibilité réduite aux ions calciques du système de contraction, et/ou au blocage de l'influx d'ions calciques à travers la membrane. [375] [376]

Chez l'homme, le thymol inhibe le courant Ca^{2+} de type L au niveau des cardiomyocytes ventriculaires de façon dose dépendante. Lorsque les canaux calciques sont bloqués, l'entrée du Ca^{2+} dans les muscles lisses vasculaires est réduite et cela mène éventuellement à une augmentation de la vasodilatation. [377]

d) Activation des canaux potassiques antihypertensive

Cet effet est attribué à la thymoquinone qui diminue de façon concentration-dépendante la tension de l'artère pulmonaire précontractée par la phényléphrine. Le glibenclamide, un inhibiteur non sélectif des canaux potassiques sensibles à l'ATP, inhibe légèrement les effets de la thymoquinone. Ainsi, la relaxation induite par la thymoquinone serait probablement due, en partie, par l'activation des canaux potassiques sensibles à l'ATP. [378]

e) Effet antioxydant

Le stress oxydant peut jouer un rôle vital dans le développement de l'hypertension par des mécanismes conduisant à la séquestration de NO, à la formation de produits issus de la peroxydation lipidique, et la diminution du cofacteur de la NOS, la tétrahydrobioptérine. Il pourrait aussi causer des changements fonctionnels et structuraux au niveau de la paroi vasculaire. Ces altérations vasculaires peuvent avoir pour origine l'atteinte directe des cellules

musculaires lisses endothéliales et vasculaires, des effets sur le métabolisme des eicosanoïdes au niveau des cellules endothéliales, l'altération des statuts redox, des augmentations de la concentration du calcium libre intracellulaire, la stimulation de l'inflammation. Le stress oxydant aide aussi au dépôt de collagène qui cause l'épaississement de la média et le rétrécissement de la lumière vasculaire. De plus, l'augmentation du stress oxydant pourrait endommager l'endothélium et en altérer la vasodilatation dépendante, ce qui amènerait à une augmentation de l'activité contractile vasculaire. Par le recrutement de protéines et de cellules de l'inflammation, les ROS pourraient induire une augmentation de la perméabilité endothéliale, en compromettre sa fonction et aggraver les lésions vasculaires. Tous ces effets observés sur le système vasculaire viennent étayer le rôle pathologique du stress oxydant dans l'hypertension. [379]

Les hauts niveaux de MDA et les bas niveaux des activités des antioxydants comme la SOD, la GSH ou le GPx chez des sujets hypertendus pourraient être dus à la production de radicaux libres, indiquant la présence du stress oxydant dans l'hypertension artérielle. [380]

Dans une autre étude, il est montré une corrélation positive dans les hypertensions entre la pression sanguine et les produits de la peroxydation lipidique et une corrélation négative entre la pression sanguine et les capacités antioxydantes du plasma, les niveaux de vitamine C plasmatiques, l'activité des enzymes antioxydantes des érythrocytes et le ratio GSH/GSSG des érythrocytes. [381]

Aussi, des patients hypertendus montrent des hauts niveaux plasmatiques de lipides peroxydés avec une diminution des niveaux des antioxydants non enzymatiques dans une étude. Cela peut être associé au stress oxydant et à une chute du potentiel de défense antioxydant. [382]

Ces résultats démontrent eux aussi un possible rôle du stress oxydant dans la physiopathologie de l'hypertension.

En diminuant la dysfonction endothéliale, la thymoquinone pourrait augmenter la relaxation des muscles lisses vasculaires entraînant une dilatation des vaisseaux et permettant ainsi de diminuer la pression sanguine. [383]

Ci-dessous, un schéma résumant les processus de l'action anti-hypertensive de *N. sativa* (fig. 23) :

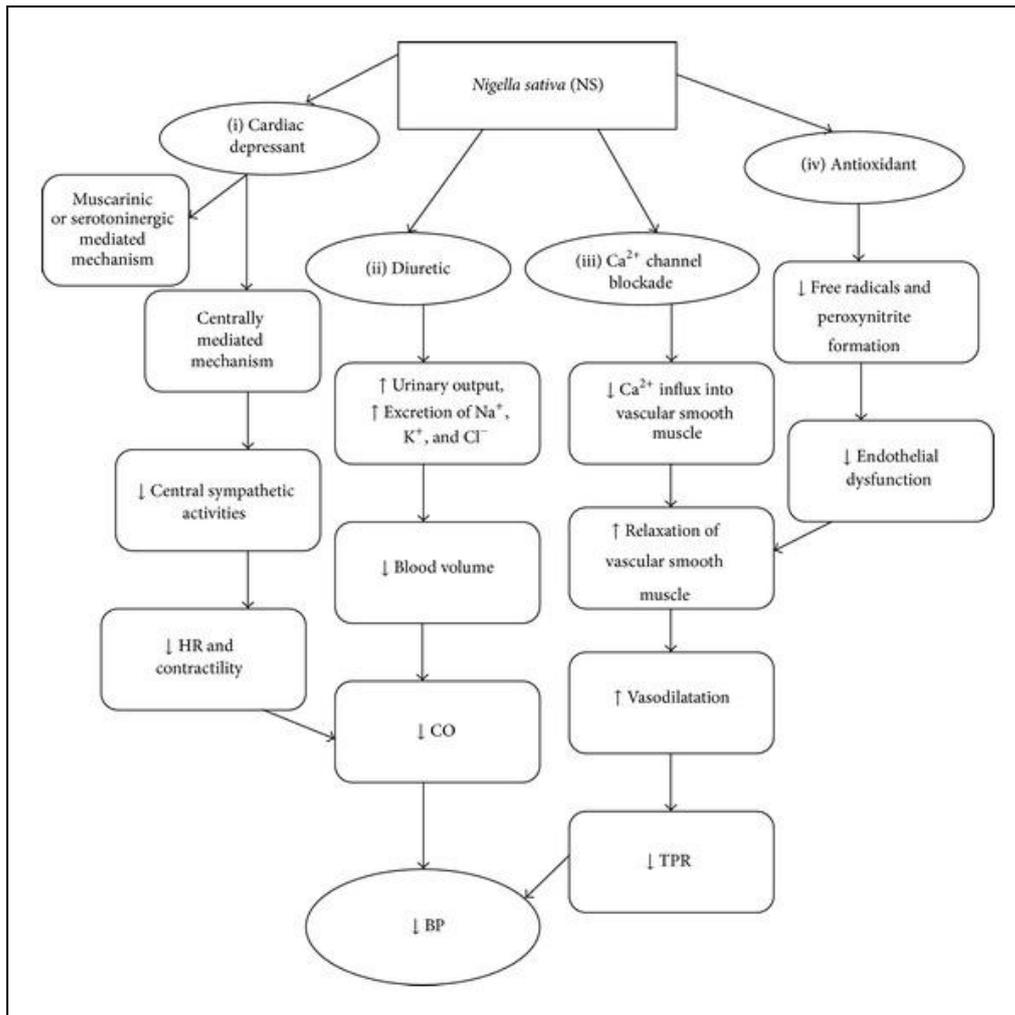


Figure 24 - Mécanismes d'action hypothétiques pour *N. sativa* dans la réduction de la pression sanguine [379]

3. Protection contre l'hyperhomocystéinémie

L'hyperhomocystéinémie (HHcy) est associée à de hauts risques d'atteintes coronaires, cérébrales ainsi que d'autres maladies vasculaires périphériques. L'intérêt de moduler les niveaux élevés d'homocystéine dans les cas d'HHcy et/ou de ses impacts négatifs par des stratégies préventives, notamment la supplémentation par des vitamines pouvant être liées à l'homéostasie de l'homocystéine (acide folique, vitamine B12 et B6), a augmenté ces dernières années.

Le prétraitement de rats par une dose orale de 100 mg/kg de thymoquinone pendant 30 minutes et aussi pendant une semaine protège presque complètement contre l'HHcy induite. Dans les mêmes conditions, le prétraitement avec l'huile végétale de *N. sativa* (100 µL/kg) produit une forte protection (74,2 % pour le prétraitement de 30 minutes et 94,5 % pour celui d'une semaine). Durant l'état d'HHcy, on constate des augmentations plasmatiques des TG,

de la peroxydation lipidique, du cholestérol et des activités de la GPx et de la SOD. L'activité de la CAT n'est pas affectée. Les niveaux des antioxydants totaux sont significativement diminués. Tous ces effets sont presque totalement bloqués par un prétraitement par la thymoquinone ou par de l'huile de *N. sativa*. Ainsi, des mesures de protection pourraient être envisagées contre l'impact néfaste de l'HHcy par l'utilisation de *N. sativa* ou de thymoquinone. [384]

4. Protection contre les effets cardiotoxiques de la ciclosporine

La ciclosporine A est un immunosuppresseur connu utilisé notamment en allotransplantation. Il a été démontré que cette molécule provoque des effets indésirables sur plusieurs organes, particulièrement le rein et le cœur.

Une étude s'est penchée sur l'évaluation des effets de l'huile végétale de *N. sativa* sur le statut des enzymes antioxydantes et le myocarde de rats traités avec la ciclosporine A. Le traitement provoque une augmentation des activités de la SOD, CAT et la GPx en comparaison avec le groupe de contrôle. Les niveaux de MDA, de NO et de *Protein Carbonyl* (PC) sont augmentés dans le groupe traité par la ciclosporine-A en comparaison avec le groupe de contrôle et du groupe *N. sativa*. La co-administration *N. sativa*/ciclosporine diminue l'augmentation induite du MDA et du PC en comparaison au groupe ciclosporine seul. Ces résultats montrent que le prétraitement avec l'huile de *N. sativa* réduit l'atteinte cardiaque provoquée par la ciclosporine chez les rats, la diminution de la peroxydation lipidique, l'amélioration de l'état des enzymes antioxydantes et l'oxydation des protéines cellulaires.[385]

H. Actions sur le système nerveux

Les études portant sur les effets de l'huile de *N. sativa* sur le système nerveux central ne sont pas nombreuses mais permettent d'entrevoir quelques effets bénéfiques.

1. Effets neuroprotecteurs de *Nigella sativa*

Du fait de ses propriétés antioxydantes, il apparaît que la graine de *N. sativa* exerce des effets protecteurs sur le système nerveux central.

En prévenant l'inhibition des enzymes antioxydantes (SOD, GPx et CAT) et en diminuant les marqueurs du stress oxydant, *N. sativa* associée la méthylprednisolone, protège les neurones des tissus nerveux de rats souffrant d'une atteinte de la moelle épinière. [386] Ces effets antioxydants sont retrouvés dans d'autres études *in vitro* et *in vivo* dans lesquelles un stress oxydant induit (ischémie, radiation ionisante, traumatisme neuronal), est atténué par l'utilisation d'extraits aqueux ou hydroalcooliques de *N. sativa* ou encore de thymoquinone seule. [387-392]

Plusieurs études permettent d'envisager un effet prometteur de *N. sativa* dans la réduction des risques de développement de la maladie d'Alzheimer. En effet, la thymoquinone atténue de manière efficace la neurotoxicité induite par le peptide β amyloïde en inhibant la pénétration induite de ROS dans les neurones de l'hippocampe et les neurones corticaux et améliore leur viabilité. [393] Elle protège aussi les cellules granulaires du cortex cérébelleux de l'exposition au peptide (séquence 1-40). [394] Chez des rats, l'huile végétale de *N. sativa* démontre une préservation cognitive spatiale. [395-396] L'extrait hydroalcoolique prévient aussi les déficits induits par la scopolamine sur la mémoire spatiale des animaux. L'activité acétylcholinestérasique ainsi que le stress oxydant sont diminués. [397]

Chez 40 personnes âgées volontaires, la prise de *N. sativa* pendant 9 semaines a permis d'améliorer la mémoire, l'attention et la cognition. Selon les auteurs, la plante peut être considérée comme un potentiel complément alimentaire pour la prévention de la maladie d'Alzheimer. [398]

Un intérêt thérapeutique dans les désordres neurodégénératifs comme la maladie de Parkinson ou la démence à corps de Lewy est attribué à la thymoquinone qui protège contre la toxicité synaptique de l' α -synucléine. [399] Un traitement de rats parkinsoniens par la thymoquinone prévient la perte de neurones dopaminergiques et diminue le stress oxydant induit. [400]

2. Effets antiépileptogènes de *Nigella sativa*

L'épilepsie est l'affection neurologique la plus commune au monde. On estime à 50 millions le nombre d'individus diagnostiqués pour cette maladie.[401] Il est établi que des altérations au niveau de la neurotransmission d'acides aminés inhibiteurs (GABA) et excitateurs (glutamate) jouent un rôle pivot dans l'étiologie de la maladie.

Dans une étude chez la souris, l'huile de *N. sativa* protège celles-ci de convulsions induites par le pentylenotétrazol (PTZ). Une des hypothèses retenues est l'action neuroprotectrice de l'huile par l'inhibition de la formation excessive de ROS permettrait d'empêcher la génération des crises. [402]

La thymoquinone aurait aussi une activité anticonvulsivante sur le petit mal épileptique chez des souris : elle prolonge le délai d'apparition des crises et réduit leur durée avec une protection contre la létalité de 45 et de 50 %. L'injection de flumazénil⁴⁴ ou de naloxone⁴⁵ inverse alors l'activité anticonvulsivante de la thymoquinone prouvant ainsi son activité anticonvulsivante chez l'animal par l'intermédiaire d'un récepteur opioïde qui lui permet d'augmenter la tonicité GABAergique.[403-405] L'huile de *N. sativa* et le valproate diminuent dans une autre étude les dommages oxydants au niveau du tissu cérébral de la souris en comparaison au groupe traité par le PTZ. En comparaison au valproate, l'huile est plus efficace pour prévenir les crises provoquées. L'huile réduit la sensibilité des souris aux convulsions et aux effets létaux du PTZ à la différence du valproate, inefficace dans la prévention de ces deux effets. [402]

Chez l'homme, deux études ont eu lieu. La première chez 20 enfants montre que la prise d'extrait de ns (40 mg/kg/8h) ou de placebo montre une diminution significative de la fréquence moyenne des crises durant la période de l'étude. [406] Quelques temps plus tard, la même équipe étudie l'effet de la thymoquinone administrée en traitement adjuvant chez 32 enfants souffrant d'épilepsie réfractaire. Il est alors confirmé que la thymoquinone réduisait la fréquence des crises.[407]

⁴⁴ **Flumazénil** : Antagoniste du récepteur GABA-A qui inhibe la prolongation des crises latentes mais ne montre pas d'effets sur la durée des crises myocliniques

⁴⁵ **Naloxone** : Inhibe la prolongation des crises et antagonise la réduction de leur durée induite par la thymoquinone.

3. Effets anxiolytiques de *Nigella sativa*

Mis dans des conditions de stress, des rats et des souris sont étudiés afin d'évaluer d'éventuelles actions anxiolytiques de l'huile végétale de ns et de la thymoquinone. Chez les rats, la prise quotidienne d'huile végétale de nigelle augmente les niveaux cérébraux de sérotonine et son premier métabolite, le 5-HIAA, est quant à lui diminué. Les concentrations cérébrales et plasmatiques du tryptophane sont aussi augmentées. [408] Pour les souris, la dose de 20 mg/kg de thymoquinone montre des effets anxiolytiques par une diminution du NO plasmatique et du GABA cérébral. Le prétraitement par le bleu de méthylène renforce cet effet. Ainsi, les voies GMPc-NO et GABAergiques pourraient être impliquées dans l'activité anxiolytique-*like* de la thymoquinone [409-410]

L'utilisation de la nigelle en complément alimentaire chez 48 adolescents permet d'observer une stabilisation de l'humeur, une diminution de l'anxiété et une modulation positive de la cognition. Cependant, une étude sur le long terme est toutefois nécessaire. [411]

4. Effets sur la dépendance aux substances opiacées

L'huile végétale de nigelle chez la souris, en inhibant la surproduction de NO induite par la morphine ou le tramadol semble avoir un potentiel thérapeutique dans la tolérance et la dépendance aux opiacés. [412-413]

Une étude menée avec une cohorte de 35 personnes a montré un effet bénéfique de *N. sativa* à la fois pour diminuer les effets du sevrage et traiter les infections dont souffrent la majorité des toxicomanes. [414]

5. Effets antinocicepteurs de *Nigella sativa*

Dans les années 2000, un effet antinocicepteur de l'extrait de graines de *N. sativa*, analogue à celui de l'aspirine, a été mis en évidence. [136] Cette observation a été confirmée chez la souris mais avec néanmoins une efficacité inférieure à celle du diclofénac. [415]

Il a été démontré que c'était la thymoquinone qui intervenait dans le phénomène et exerçait un effet dose-dépendant central. Les résultats du test à la formaline, permettent de supposer que l'effet de la thymoquinone met en jeu les récepteurs aux opioïdes μ_1 et κ . [416]

Les travaux de Jafarabadi avec l'huile essentielle de *N. sativa* montrent l'effet nocicepteur de cette dernière mais selon un autre mécanisme que celui de la thymoquinone.[417-418]

I. Actions diverses de *Nigella sativa*

1. Actions dans les troubles métaboliques : l'obésité

L'obésité est un problème de santé majeur affectant tous les groupes d'âge, résultant en une augmentation significative de la mortalité et de la morbidité liée à des maladies cardiovasculaires, au diabète de type 2, ou encore au syndrome métabolique.

Sur des modèles de rats diabétiques obèses, un extrait aqueux de *N. sativa* normalise le poids des animaux. Un autre extrait de la plante (éther de pétrole), après 4 semaines de traitement de rats normaux, induit une perte de poids initiale transitoire ainsi qu'une réduction de la consommation d'aliments. L'absence de signe physique ou comportemental laisse de côté le possible résultat d'un effet toxique de *N. sativa*. Lors des trois dernières semaines de traitement, les rats reviennent à un niveau proche de la normale laissant penser alors à l'existence d'un léger effet anorexique de la part de cet extrait de *N. sativa*. [331]

Une étude chez 50 hommes obèses en double aveugle a montré que *N. sativa* réduisait le tour de taille, de hanches et induisait une perte de poids. [419-420]

2. Actions sur le système reproducteur

a) Action contraceptive de *N. sativa*

L'administration orale d'extrait à l'hexane de *N. sativa* prévient la gestation de rates à la dose de 2 g/kg/j entre les jours 1 et 10 suivant le coït. L'extrait présente une légère activité utéro-trophique comparable à une dose de 0,002 mg/kg de 17 β -œstradiol et directement proportionnelle à l'éthinylestradiol, tout en étant dépourvu de toute oestrogénicité chez les rats immatures. [287] Des activités agonistes ou antagonistes des œstrogènes ont été recherchées dans un extrait méthanolique de *N. sativa*. Les résultats indiquent que cet extrait possède une action œstrogénique décelable après un traitement à la naringinase. [421]

b) Action anti-ocytocique de *N. sativa*

Les effets de l'huile volatile des graines de *N. sativa* sur le muscle lisse utérin de rates et de cochons d'Inde ont été testés *in vitro* en utilisant des cornes utérines isolées. Les résultats indiquent que l'huile essentielle inhibe les mouvements spontanés du muscle lisse des deux animaux ainsi que les contractions induites par la stimulation de l'ocytocine. Ces effets sont

dose-dépendants et réversibles par le lavage des tissus. Les données suggèrent que cette huile volatile pourrait avoir un possible potentiel anti-ocytocique. [422]

*c) Action galactagogue de *N. sativa**

A la suite de deux études menées dans les années 1960 [32-33], une autre fut menée récemment.. Les résultats indiquent que des extraits aqueux et éthanoliques de *N. sativa* augmentent la production de lait chez des rats, avec une augmentation de 31,3 % et 37,6 % respectivement par rapport au groupe témoin. Ainsi, il est conclu que ces extraits de *N. sativa* stimulent la production de lait, confirmant ainsi son utilisation traditionnelle comme agent galactagogue. [423]

d) Protection du tissu ovarien

L'administration de *N. sativa* est efficace pour réparer les dommages tissulaires induits par ischémie et/ou par ischémie/reperfusion sur des ovaires de rates. Les marqueurs du stress oxydant sont diminués (MDA, MPO) et l'activité de la SOD et les niveaux de GSH sont rétablis. Le niveau sérique des cytokines IL-1 β , IL-6 et TNF- α diminue avec l'administration de *N. sativa*. [424]

e) Action sur la toxicité testiculaire du méthotrexate

Dans une étude, il a été montré que le traitement de souris par la thymoquinone permet de diminuer les capacités totales antioxydantes du méthotrexate et prévient l'augmentation d'activité de la MPO. La microscopie optique, montre que chez les souris recevant le méthotrexate, des atteintes au niveau de l'épithélium et du diamètre des tubes séminifères apparaissent (dilatation de l'espace interstitiel, œdème). L'administration de thymoquinone inverse significativement ces modifications histologiques. Ainsi l'utilisation de la thymoquinone pourrait diminuer les effets indésirables du méthotrexate sur le tissu testiculaire des patients recevant ce traitement. [241]

f) Action sur la fertilité mâle

Une étude a porté sur les effets modulateurs de la consommation journalière d'huile de *N. sativa* sur l'activité antioxydante, la qualité du sperme et l'axe pituitaire-testiculaire chez des rats adultes. Les actions antioxydantes de la plante sont encore prouvées avec une diminution

du niveau de MDA et une augmentation du GPx et du GSH. Dans le groupe traité, il y a une augmentation de l'activité de la CAT accompagnée de la concentration du sperme. Par contre, un effet non significatif est montré sur la testostérone, l'inhibine-B, la FSH et la LH en comparaison au groupe de contrôle. Ainsi, l'administration d'huile de *N. sativa* peut modifier les caractéristiques du sperme chez des rats mâles adultes. [426]

L'administration d'un extrait aqueux de *N. sativa*, pendant 60 jours à raison de 300 mg/kg chez des rats induit des effets chez ces derniers : augmentation du poids des organes reproducteurs et stimulation de différents paramètres (épaisseur et diamètre des tubes séminifères, spermatogonie, spermatoocytes primaires et secondaires, spermatoïdes, spermatozoïdes libres, diamètre des cellules de Leydig, densité du sperme, activité sécrétrice des vésicules séminales et de la prostate, temps d'excitation). Une augmentation du nombre de femelles gestantes est aussi observée. Le mécanisme envisagé ici serait une augmentation des hormones responsables de la spermatogénèse, la LH, la FSH et la testostérone. [3, 427-429] Deux autres études utilisant un extrait alcoolique de graines chez des rats mâles et chez des lapins ont des conclusions allant dans le même sens que cette première étude.

Une étude a été conduite chez 34 patients dont les spermatozoïdes possédaient une morphologie anormale, un faible nombre ou une mobilité diminuée. Ces patients reçurent 2,5 mL d'huile végétale de *N. sativa* deux fois par jour pendant 2 mois. Les résultats de l'étude montrent que le nombre de spermatozoïdes, leur motilité, ainsi que le volume du sperme sont accrus. La morphologie des spermatozoïdes est améliorée et le nombre de cellules rondes (celles qui n'ont pas la possibilité d'être mobiles) est nettement diminué par rapport au groupe qui a reçu un placebo. Cinq millilitres d'huile de *N. sativa* ingérés quotidiennement améliorent donc la qualité d'un sperme anormal chez des hommes stériles, et n'induisent pas d'effets indésirables. [430]

3. Actions sur le système digestif

a) Propriétés gastroprotectrices antiulcéreuses

Diverses études montrent qu'aussi bien l'huile végétale de *N. sativa* que la thymoquinone seule possèdent une action protectrice de la paroi gastrique. Dans ces études, des rats et des souris dont la muqueuse gastrique avait été préalablement endommagée, ont été utilisés pour étudier les effets de l'utilisation de *N. sativa*.

Les lésions induites sur la muqueuse gastrique étaient liées à la formation de radicaux libres à la suite d'un phénomène d'ischémie/reperfusion. Elles furent diminuées par un traitement par de huile végétale de *N. sativa* : 2,5 et 5 mL/kg *per os* ou par de la thymoquinone : 5-20-50 et 100 mg/kg *po* [431] Plusieurs hypothèses peuvent être émises sur le mécanisme d'action impliqué. Dans la première, il y aurait une inhibition de la libération d'histamine par les mastocytes de l'estomac. Toutefois, dans une précédente étude, une diminution du taux d'histamine n'avait pas affecté l'activité peptique et acide du liquide gastrique. [262] Une autre hypothèse serait une action sur la machinerie redox. Enfin, concernant la thymoquinone, celle-ci inhiberait la peroxydation lipidique permettant ainsi de préserver l'intégrité de la membrane cellulaire. Cela rejoint deux études où la capacité de l'éthanol à générer des ulcères est réduite avec l'huile végétale de *N. sativa* et de la thymoquinone par prévention de la peroxydation lipidique et diminution des marqueurs biologiques du stress oxydant (GSH, SOD, GSH-ST). [432-433]

Un autre mécanisme de l'action gastroprotectrice de *N. sativa* semble faire intervenir une augmentation de la sécrétion de mucus dans la muqueuse gastrique.[88] Ce mécanisme est également avancé dans une autre étude où l'ulcération gastrique chez des rats a été provoquée par un mélange (80 % éthanol, 0,2 M NaOH, 25 % NaCl et indométacine). Dans cette étude, une suspension aqueuse de la poudre des graines de *N. sativa* prévient significativement la formation d'ulcères, atténue la sévérité des ulcères. Elle améliore la sécrétion basale d'acide ainsi qu'un réapprovisionnement du contenu en mucus gastrique. [434]

Dans une étude récente, un nouveau mécanisme gastroprotecteur de la thymoquinone (en combinaison ou non avec de l'oméprazole) est avancé : celui d'une inhibition de la pompe à protons. La combinaison des deux molécules, même à demi-dose, aide efficacement à la réduction de l'activité de la pompe à protons. [435]

Groups	Acid secretion (mEq/l)	Acid output (mEq/h)	Pepsin (μ mole tyrosine/ml)	H ⁺ /K ⁺ -ATPase (μ mole Pi/mg protein/h)	Mucin (mg hexose %)
Sham	21.3 \pm 0.62	5.2 \pm 0.17	540 \pm 41	0.28 \pm 0.01	71 \pm 1.4
I/R	33.2 \pm 0.8 ^a	20.1 \pm 1.3 ^a	985 \pm 40.2 ^a	0.61 \pm 0.01 ^a	51 \pm 1.6 ^a
I/R+TQ ₁₀	17.8 \pm 0.8 ^b	6.9 \pm 0.7 ^b	590 \pm 14.3 ^{b,c,e}	0.53 \pm 0.03 ^{a,c,d,e}	78 \pm 1.6 ^{b,c}
I/R+TQ ₂₀	15.8 \pm 0.4 ^{a, b,e}	5.4 \pm 0.6 ^b	495 \pm 19.0 ^{b,e}	0.33 \pm 0.02 ^{b,c}	80 \pm 1.6 ^{b,c}
I/R+Omeprazole ₁₀	21.9 \pm 1.2 ^{b,c,d}	7.2 \pm 0.4 ^b	610 \pm 16 ^{b,c,d,e}	0.28 \pm 0.02 ^{b,c,e}	55 \pm 1.5 ^{a,d,e}
I/R+Omeprazole ₂₀	14.4 \pm 0.9 ^{a,b}	5.3 \pm 0.3 ^b	475 \pm 19.7 ^b	0.15 \pm 0.02 ^{a,b}	62 \pm 4.1 ^{a,b}
I/R+TQ ₁₀ +Omeprazole ₁₀	21.4 \pm 1.3 ^{b,c}	7.9 \pm 0.3 ^b	776.6 \pm 11.2 ^{b,c}	0.42 \pm 0.03 ^{a,b,c}	72 \pm 1.1 ^{b,c}

Tableau 7 - Effet de la thymoquinone (10 & 20 mg/kg ; TQ₁₀ & TQ₂₀), de l'oméprazole (10 & 20 mg/kg ; oméprazole₁₀ & oméprazole₂₀) et leur combinaison [TQ₁₀ & oméprazole₁₀] sur la teneur/activité de la sécrétion d'acide gastrique, la production d'acide, de pepsine, de la pompe à proton et du mucus chez des rats avec ischémie/reperfusion par ligature du pylore. Values are means of 7–9 rats \pm S.E.M as compared with sham (^a), ischemia/reperfusion (^b), omeprazole₂₀ (^c), and combination (^d), pretreated groups (one-way ANOVA followed by Tukey's Multiple Comparison Test) at $P < 0.05$.

Ces différentes études valident l'utilisation de *N. sativa* comme agent protecteur de la muqueuse gastrique, validant ainsi son utilisation traditionnelle chez l'homme.

b) Actions dans la colique inflammatoire

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), incluant la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse, sont des désordres intestinaux inflammatoires au long cours, souvent chroniques. Les données suggèrent qu'un ensemble de facteurs immunitaires, génétiques et environnementaux pourraient jouer un rôle important dans le développement des MICI.

Les effets bénéfiques de l'huile végétale de *N. sativa* ont été étudiés chez des rats atteints d'entérocolite nécrosante (ECN). Les résultats de l'étude montrent que l'huile permet de réduire la sévérité des dommages intestinaux chez les rats. En effet, le score clinique de la maladie dans le groupe traité (2 mL/kg/j i.p. du premier jour de l'étude jusqu'à la fin) ainsi que le gain de poids était meilleur en comparaison au groupe non traité. Dans le groupe traité, la sévérité des dommages intestinaux était moins grande que dans le groupe non traité. De même les niveaux des enzymes antioxydantes (GPx et SOD) étaient préservés alors que les niveaux de MDA tissulaire et du MPO étaient plus bas que ceux du groupe non traité. [436] Dans un autre modèle de colite ulcéreuse induite par le TNBS (*TriNitroBenzène Sulfonic acid*) chez des rats, l'administration orale d'huile végétale de *N. sativa* durant 3 jours après l'induction de la colite, diminue les cytokines pro-inflammatoires, le LDH, les TG et le cholestérol. En prévenant ainsi l'inflammation, l'huile a partiellement protégé le tissu colique. [437] Par contre, chez des souris intoxiquées par le même produit pour induire une colite, l'effet anti-inflammatoire de la thymoquinone n'a pas pu être confirmé [438] Dans une

précédente étude, la thymoquinone avait pourtant eu des effets dans une colite induite par l'acide acétique. [439] Cela pourrait s'expliquer par les différences entre les modèles expérimentaux : TNBS vs acide acétique, rat vs souris, une prise par jour de thymoquinone vs prise continue, colite sur 7 jours vs 24 heures.

Dans une autre étude, on a essayé de déterminer si le traitement par la thymoquinone pouvait prévenir et améliorer l'inflammation du colon induite par l'administration à des souris de dextran sulfate de sodium (DSS) pendant 7 jours consécutifs. Ces souris furent traitées par 5, 10 ou 25 mg/kg de thymoquinone oralement. Les résultats montrent que ce traitement permet de prévenir et de réduire la survenue des diarrhées et la perte de poids. De plus l'activité de la MPO du colon et les niveaux de MDA sont diminués tandis que ceux du GSH sont augmentés. Ainsi, la thymoquinone pourrait servir d'agent thérapeutique potentiel dans le traitement de patients atteints d'inflammation du colon.[440]

Un extrait de *N. sativa* aurait un effet anti-diarrhéique par relaxation du jéjunum. Le mécanisme évoqué est un blocage des canaux calciques, à l'origine de l'action spasmolytique de la plante. .[276]

c) Actions diverses en gastrologie

Il s'agit d'actions qui ont déjà été mentionnées précédemment qui sont rappelées ici. *N. sativa* aussi bien que la thymoquinone agissent sur les cellules cancéreuses du colon, avec la thymoquinone qui est aussi efficace que le 5-FU pour provoquer leur apoptose. Par ailleurs, *N. sativa* a un effet négatif sur l'absorption du glucose à partir de la muqueuse intestinale, qui lui confère une action antidiabétique. Enfin, dans la schistosomiase, elle exerce une action antiparasitaire en diminuant le nombre d'œufs et de vers.

4. Actions hépatiques : protection et stimulation

Dans un modèle *in vivo* de fibrose hépatique provoquée par le thioacétamide (200 mg/kg) chez des souris, la thymoquinone (20 ou 40 mg/kg) atténue l'atteinte en l'accompagnant par une réduction de l' α -SMA ainsi que l'expression de son ARNm. La thymoquinone réduit aussi le collagène de type I et le TIMP-1 (*Tissue Inhibitor of MetalloProteinase-1*). Concernant le mécanisme d'action, il apparaît que la thymoquinone sous-régule l'expression du TLR4 et diminue significativement les niveaux des cytokines pro-inflammatoires. Elle inhibe aussi la phosphorylation de la PI3K et améliore celle de l'AMPK et de la LKB-1 (*Liver Kinase B-1*). De cette étude il ressort donc que la thymoquinone réduit l'accumulation de

protéines dans la matrice extracellulaire. Cela pourrait se faire en partie, par la régulation des voies de signalisation de l'AMPK. La thymoquinone serait hypothétiquement un candidat pour le traitement des fibroses hépatiques. [441]

L'huile végétale de *N. sativa* donnée oralement à des rats subissant une irradiation de 5 Gy au niveau de la tête permet de réduire les marqueurs du stress oxydant et augmente les capacités antioxydantes du tissu hépatique des animaux. [442]

5. Actions rénales

En raison de ses propriétés antioxydantes, *N. sativa* permet de protéger le tissu rénal contre divers agents oxydants et leurs effets néphrotoxiques : amélioration des paramètres fonctionnels, rétablissement du taux d'urée, de créatininémie et de sa clairance, amélioration de la polyurie, de la masse rénale, réduction du syndrome néphrotique, amélioration histologique.

Les effets possibles de l'huile de *N. sativa* en prévention de néphrotoxicité induite par la ciclosporine A ont été étudiés chez des rats. L'immunosuppresseur provoque des altérations significatives au niveau de la fonction rénale et de sa morphologie. Aussi, il laisse apparaître un stress oxydatif sévère. Dans cette étude, l'huile végétale améliore significativement les paramètres fonctionnels et histologiques rénaux. Elle atténue aussi le stress oxydatif induit par la ciclosporine A. [443]

La gentamicine provoque chez l'homme et l'animal une toxicité rénale prononcée. Cette pathogénèse se trouve être liée à la génération de ROS. Une première étude en 2004 indique que le traitement oral de rats par l'huile végétale de *N. sativa* améliore la néphrotoxicité induite. En effet, de façon dose dépendante, elle corrige les marqueurs biochimiques (insuffisance rénale et stress oxydant) et histologiques (tube proximal) atteints par l'antibiotique en comparaison aux taux témoins. [444] Ces résultats furent confirmés par la suite quelques années après dans d'autres études chez l'animal. [445-446].

Quant à la thymoquinone, elle pourrait aussi prévenir le développement d'une insuffisance rénale aiguë induite par la gentamicine selon un mécanisme antioxydant. [447]

La plante et la thymoquinone montrent aussi une activité anti-bactérienne, vis-à-vis des bactéries responsables d'infections urinaires (*E. coli*, *S. aureus*...) même si aucune étude chez l'homme n'a encore été menée pour vérifier ces données.

Par son action diurétique, *N. sativa* permet de diminuer la pression artérielle et facilite l'élimination des ions chlorures, sodiques et potassiques.

L'extrait méthanolique de *N. sativa* est aussi actif contre des dépôts d'oxalate de calcium induits par l'éthylène glycol sur des rats. Une application au traitement des calculs rénaux pourrait alors être envisageable. [3, 448]

6. Actions en dermatologie : activité antipsoriasique de *N. sativa*

Une étude de 2012 a évalué l'activité antipsoriasique d'un extrait éthanolique de graines de *N. sativa in vitro* sur la lignée cellulaire HaCaT de kératinocytes humains et *in vivo* sur la queue de souris servant de modèle au psoriasis. L'extrait provoque une différenciation épidermique significative évaluée en fonction du degré d'orthokératose ($71,36 \% \pm 2,64$) en comparaison au témoin négatif ($17,30 \pm 4,09 \%$). Cela équivaut à l'effet du ZORAC 0,1 % Gel (Tazarotène) avec lequel le niveau d'orthokératose de $90,03 \pm 2,00 \%$. L'extrait augmente aussi l'épaisseur relative de l'épiderme, par rapport au groupe témoin. [449]

7. Action en ophtalmologie : activité anti-cataracte de *N. sativa*

Dans la seule étude rapportée sur ce sujet, il s'agissait d'étudier les effets antioxydants et radioprotecteurs de l'huile végétale de *N. sativa* et de la thymoquinone contre les radiations ionisantes du crâne induisant des cataractes chez des rats. Après 10 jours d'étude, la cataracte se développait chez 80 % des rats du groupe recevant uniquement les radiations. Dans les groupes traités, ce taux n'atteignait que 20 % pour l'huile et 50 % pour la thymoquinone. Le stress nitrosatif était également moins important dans les groupes traités. [450]

VI. Pharmacocinétique de *N. sativa*

Il n'y a que très peu d'études publiées à ce jour concernant les propriétés pharmacocinétiques de *N. sativa*, et plus particulièrement celles de la thymoquinone.

1. Distribution de la thymoquinone

Par analyse HPLC, il apparaît que la thymoquinone est capable de se lier aux protéines plasmatiques. En effet, la thymoquinone libre sérique est de 2,5 % à une concentration de 10 µg/mL et de 72 % pour 100 µg/mL. Ainsi, il fut émis l'hypothèse de la liaison de la molécule à des composants du sérum. A faible concentration, une grande quantité de site de liaison irréversible est disponible pour la thymoquinone, ce qui explique son faible dosage sérique. Par contre, à de forte concentration, tout les sites sont saturés et la thymoquinone se retrouve libre en grande quantité.

En testant la liaison de la molécule aux protéines plasmatiques majeures, les résultats révèlent que la thymoquinone se lie à hauteur de $94,5 \pm 1,7$ % à la sérum albumine bovine (de façon covalente, spécifiquement au niveau de la cystéine-34) et à hauteur de $99,1 \pm 0,1$ % à l' α -1-glycoprotéine acide. [451]

Dans une autre étude, il est montré que la thymoquinone se lie aussi avec la sérum albumine humaine. Selon les résultats d'études thermodynamiques, le complexe se formerait essentiellement par des interactions hydrophobes. En utilisant la warfarine et l'ibuprofène dans des expériences de déplacement, il apparaît que la thymoquinone pourrait se lier au site I de l'albumine, ce qui est en accord avec les résultats de l'étude de modélisation moléculaire. [452]

2. Interaction avec des composés

Dans une étude sur les effets d'extraits de *N. sativa* sur les activités métaboliques du CYP3A4 et du CYP2D6 dans les microsomes de foie humain ainsi que chez des sujets sains, il est montré que *N. sativa* inhibe significativement le métabolisme du dextrométhorphan via le CYP2D6 (80 % d'inhibition pour le métabolite dextrorphan à la concentration de 100 µg/mL), et via le CYP3A4 (60 % d'inhibition pour le métabolite 3-méthoxymorphinane à la même concentration). *N. sativa* aurait donc le potentiel d'interagir avec les substrats des CYP3A4 et 2D6. [453]

Dans une autre étude, *N. sativa* a affecté la pharmacocinétique de la ciclosporine sur des lapins par une modulation des activités du CYP3A et de la P-gp. Elle réduit sa biodisponibilité par voie orale (diminution du C_{max} et de l'AUC). [454]

3. Paramètres pharmacocinétiques de la thymoquinone chargée dans des liposomes

Une étude publiée en juin 2013 sur des lapins donne à la thymoquinone chargée dans des liposomes NLC (*Nanostructured Lipid Carriers*) les données suivantes :

Paramètres	TQNLC 10 mg/kg
T_{max} (h)	3,96 ± 0,19
C_{max} (ng/mL)	4811,33 ± 55,52
AUC (ng.h/mL)	26821,61 ± 9,40
V_d (L/kg)	4,32 ± 0,34
CL (L/h/kg)	0,71 ± 0,031
$t_{1/2}$ (h)	4,4933 ± 0,015

Tableau 8 – Paramètres pharmacocinétiques de la TQ chez le lapin suite à une seule dose extravasculaire de TQNLC (n=3)

D'après ces résultats, les auteurs affirment que la thymoquinone est appropriée pour l'administration extravasculaire et les NLC pourraient être des véhicules prometteurs pour son administration orale. [455]

VII. Toxicité de *Nigella sativa*

1. Toxicité des graines et de l'huile de *Nigella sativa*

La toxicité potentielle de l'huile végétale des graines de *N. sativa* a été recherchée chez des souris et des rats par la détermination des valeurs de la DL₅₀ et par l'examen de possibles changements biochimiques, hématologiques et histologiques.

Une étude utilisant différents extraits (aqueux, méthanoliques, chloroformiques) des graines de *N. sativa* à différentes concentrations (6, 9, 14 et 21 g/kg/j) a été entreprise. A tous ces dosages et dans tous les différents groupes étudiés, aucune mortalité n'est observée à J3 et J7. Le poids des animaux est légèrement diminué. Des changements dégénératifs au niveau des cellules hépatiques sont par contre observés uniquement avec l'extrait aqueux à la dose de 6 g/kg/j. [456]

L'administration orale d'huile de *N. sativa* à des doses allant jusque 10 mL/kg chez des rats et des souris ne cause ni toxicité, ni mortalité au cours des 48 heures d'observation de l'étude.[457] Plusieurs autres études confirment ces résultats [331, 344-345].

L'administration orale de poudre de graines de *N. sativa* chez 24 rats à faible dose (0,01 g/kg/j), à dose normale (0,1 g/kg/j) et à dose élevée (1 g/kg/j) pendant 28 jours a servi pour déterminer les effets toxiques de la plante sur la fonction hépatique. Les résultats ne révèlent pas de changements significatifs des activités des transaminases ALAT et ASAT. Par ailleurs, les observations histopathologiques ne font apparaître que des changements très minimes de la stéatose hépatique pour les groupes traités à doses normales. Ils sont par contre significatifs avec les doses élevées. Aucun signe inflammatoire n'a été décelé quelle que soit la dose. Cette étude montre que l'administration de *N. sativa* jusqu'à la dose d' 1 g/kg n'induit pas de toxicité hépatique. [458]

Par voie intrapéritonéale, l'administration d'extrait de *N. sativa* (50 mg/kg) à des rats pendant 5 jours n'affecte pas les activités des principales enzymes et des métabolites des fonctions hépatiques et rénales. [232]

Les valeurs de DL₅₀ obtenues par une seule dose (toxicité aiguë) de l'huile végétale chez des souris étaient de 28,8 mL/kg par voie orale et de 2,06 mL/kg par voie intrapéritonéale.

La toxicité chronique a été étudiée chez des rats traités quotidiennement avec une dose orale de l'huile végétale de 2 mL/kg pendant 12 semaines. Des changements dans les niveaux des enzymes hépatiques (ALAT, ASAT, GSH) et les modifications histopathologiques (cœur,

foie, reins, pancréas) n'ont pas été observés chez les animaux après la fin de la période de traitement). [345] Suite à l'administration chronique sur 6 semaines d'extraits aqueux de *N. sativa*, une étude histologique d'échantillons de reins, de pancréas et de foie montrent que ces tissus sont normaux et sains. Il est rapporté que le traitement de 344 rats par l'huile végétale de *N. sativa* durant 14 semaines est sans incidence du point de vue pathologique sur le foie, les reins, la rate et d'autres organes. Il en est de même au niveau des paramètres biochimiques sanguins et urinaires, ainsi que sur la prise de poids. [332]

Les différents paramètres issus de ces études indiquent que *N. sativa* est non toxique, comme peut en témoigner les valeurs de DL₅₀, de la stabilité des enzymes hépatiques, de l'intégrité des organes, suggérant ainsi une large marge de sécurité pour des doses thérapeutiques d'huile végétale de *N. sativa*.

2. Toxicité de la thymoquinone

La thymoquinone est métabolisée *in vivo* en radicaux hydroquinones ou semiquinones par des oxydoréductases cellulaires conduisant à la production de ROS. Par ce mécanisme, la thymoquinone pourrait alors conduire à des effets indésirables.

Après l'administration orale, dans un modèle de toxicité aiguë, la DL₅₀ de la thymoquinone était de 2,4 g/kg chez des souris. A forte dose, les auteurs rapportent une hypoactivité et des difficultés respiratoires. Aussi, 24 heures après l'administration de la thymoquinone, il est observé des atteintes au niveau de certains tissus (foie, reins, cœur) ainsi qu'une diminution de taux de GSH. Les concentrations plasmatiques de l'urée, de la créatinine, les activités enzymatiques de l'ALAT, de la LDH et de la CPK sont significativement augmentées. [459] Dans une autre étude, la DL₅₀ est de 870,9 mg/kg chez les souris et de 794,3 mg/kg chez des rats. [460]

Par voie intrapéritonéale, des doses de thymoquinone supérieures à 50 mg/kg étaient mortelles pour des souris. La DL₅₀ était de 90,3 mg/kg. [461] Plus récemment, la DL₅₀ est calculée à 104,7 mg/kg chez des souris et à 57,5 mg/kg chez des rats par la même voie d'administration. [460] Une autre étude calcule une DL₅₀ de 10 mg/kg par cette même voie chez le rat. [3, 34] Ces valeurs de DL₅₀ pour les voies intrapéritonéales et orales sont 10 à 15 fois et 100 à 150 fois plus grandes que les doses de thymoquinone rapportées pour ses effets anti-inflammatoires, antioxydants et anticancéreux. La marge thérapeutique de la thymoquinone est donc large : ses effets thérapeutiques sont bien dissociés de ses effets toxiques.

Dans une étude sur la toxicité chronique de la thymoquinone chez des souris, son administration via l'eau de boisson à des concentrations allant jusque 0,03 % pendant 90 jours ne montre pas de signe toxique, exception faite d'une diminution significative de la glycémie à jeun.

L'étude de phase I mentionnée dans la partie traitant du cancer montrait que l'homme pouvait tolérer une dose journalière de 2600 mg de thymoquinone. [261]

La thymoquinone est un composé relativement sûr, particulièrement lorsqu'il est donné par voie orale chez l'animal.

3. Toxicité chez l'homme

a) Allergie de contact

Deux cas de dermatite de contact allergique furent rapportés chez deux personnes souffrantes d'eczéma maculopapulaire après l'utilisation de l'huile essentielle de *N. sativa* présente dans un topique cutané. Ces cas furent traitables par l'utilisation de corticostéroïdes. [462] Paradoxalement, l'huile est commercialisée pour aider les cas de « troubles du dysfonctionnement de la peau, inflammation, acné et eczéma ». [463]

b) Insuffisance rénale aigüe

Il s'agit du cas d'une patiente de 62 ans, diabétique de type II depuis 12 ans et aussi atteinte d'hypertension artérielle et de pathologie coronarienne depuis 1 an, hospitalisée pour une détérioration de son contrôle glycémique. Sa glycémie moyenne avant l'hospitalisation est entre 220 et 270 mg/dL. A l'examen physique, son foie est palpable et un œdème au niveau du tibia est présent. Les premières analyses biologiques montrent une urée à 44 mg/dL, une créatinine à 1,16 mg/dL, un sodium à 135,1 mmol/L, un potassium à 4,86 mmol/L, un ASAT à 30 UI/mL, un ALAT à 24 UI/mL. Sa glycémie à jeun est de 246 mg/dL. Aucune croissance de microorganismes pathogènes n'est observée dans l'examen bactériologique des urines. Ses doses d'insuline sont ajustées pour la régulation de sa glycémie. Le volume urinaire au premier jour d'admission était de 1200 mL. D'après le témoignage de la patiente, elle commença l'utilisation de *N. sativa* en comprimés achetés avant son admission le premier jour de son hospitalisation à raison de 2 à 3 comprimés par jour. Au troisième jour

d'admission son urée était à 65 mg/dL et sa créatinine à 1,39 mg/dL. Au sixième jour, l'urée était à 89 mg/dL et la créatinine à 1,85 mg/dL. Pendant ces six jours, la patiente a ingéré les comprimés de *N. sativa* à la dose approximative de 2000 – 2500 mg/jour. Des signes de néphrotoxicité sont alors apparus dont les comprimés de *Nigella sativa* pourraient être la cause. L'administration de *N. sativa* fut alors arrêtée et au quatrième jour après l'arrêt de *N. sativa*, l'urée redescendit à 42 mg/dL et la créatinine à 1,17 mg/dL. Ces résultats amènent à penser que l'insuffisance rénale aiguë était bien due à l'utilisation de *N. sativa*. L'utilisation de *N. sativa* en comprimés chez des patients diabétiques à la dose de 2000 à 2500 mg/jour pourrait donc induire une néphrotoxicité. L'utilisation phytothérapeutique de *N. sativa* chez des patients diabétiques atteints d'insuffisance rénale aiguë devrait alors être évitée. [464]

A cette publication, l'équipe de Bamosa du département de physiologie de l'université de Damman en Arabie Saoudite réplique en ramenant les résultats de différentes études montrant l'absence d'effet toxique de *N. sativa* [293, 324]. Selon lui, les auteurs auraient dû s'orienter vers la composition des comprimés qu'ils rapportent être la cause de l'insuffisance rénale aiguë avant de l'attribuer à *N. sativa*. En effet, plusieurs produits d'herboristerie en vente au public sont contaminés par d'autres produits pouvant être toxiques. A la date de la publication (décembre 2013), son équipe était en train de publier les résultats d'une étude sur une année de *N. sativa* chez des patients diabétiques où celle-ci montre des effets hypoglycémiant, hypolipémiant et cardioprotecteurs sans toutefois avoir aucun effet indésirable. [465]

Conclusion

Tout au long de cet exposé, nous avons pu découvrir *Nigella sativa*, cette plante utilisée depuis des millénaires dans plusieurs cultures, à différentes périodes et à différents endroits du monde. Depuis maintenant quelques dizaines d'années, la recherche scientifique a porté son regard sur cette plante.

Dans notre travail de compilation, nous avons pu aborder et regrouper les connaissances concernant l'utilisation de *Nigella sativa* puis vérifier certaines de celles-ci sur le plan pharmacologique. Parmi les propriétés qui ont pu être vérifiées, nous retrouvons ses actions anti-inflammatoires, anti-allergiques, anti-asthmatiques, ou encore anti-infectieuses. Les études en laboratoire, chez l'animal ou chez l'homme ont permis de mettre à jour de nouvelles propriétés. L'huile végétale de nigelle a des effets bénéfiques sur la plupart, si ce n'est tous les systèmes du corps humain. Sa composition en antioxydants est en partie responsable de ces effets. Sa molécule d'intérêt, la thymoquinone, est impliquée dans une dizaine de voies de signalisation moléculaires notamment certaines jouant un rôle dans le contrôle du cycle cellulaire. De ce fait la thymoquinone devient alors vraiment intéressante pour le développement de traitements contre le cancer, et c'est pour cela que des analogues structuraux comme la poloxine ont été synthétisés. Les différents effets découverts pour le contrôle de la pression artérielle et du diabète, ou encore sur le système nerveux font de *Nigella sativa* une plante d'intérêt industriel. D'ailleurs, les laboratoires Nestlé souhaiteraient poser un brevet dessus pour prévenir l'allergie alimentaire. [466-467]

Même si les données disponibles concernant les utilisations traditionnelles de *Nigella sativa* n'ont pas toutes été soumises à l'évaluation scientifique, il n'en demeure pas moins qu'au vu des résultats obtenus, le savoir sur ces pharmacopées est à prendre en compte et la recherche des preuves de leur bien fondé est à poursuivre afin d'amener l'information à la population que *Nigella sativa* n'est plus seulement un médicament⁴⁶ traditionnel mais une plante de phytothérapie contemporaine.

De par cet exemple d'application de l'ethnopharmacologie, nous pouvons nous interroger sur le développement de cette matière dans la recherche ainsi qu'à son enseignement spécifique dans le cursus de la pharmacie.

⁴⁶ "Toute plante présentée comme ayant une action thérapeutique est un médicament" (art. 512 du CSP)

Bibliographie

1. <http://www.ethnopharmacologia.org>. *L'Ethnopharmacologie*. Available from: <http://www.ethnopharmacologia.org/definition/>.
2. Orsi-Llinares, F., *La nigelle, une épice d'intérêt médicinal*. 2006, Grenoble.
3. Toparslan, C., *À propos de Nigella sativa L.* 2012, Lorraine: Nancy. p. 136.
4. Burits, M. and F. Bucar, *Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil*. *Phytother Res*, 2000. **14**(5): p. 323-8.
5. Al-Boukhârî, *Le Sahîh d'Al-Boukhârî (Arabe-Français)*. 2007, Maison d'Ennour: Paris. p. #5688.
6. Al-Tourkoumani, Y., *Al-Mou'tamad fi l-adwiyah l-moufrad*.
7. Padhye, S., et al., *From here to eternity - the secret of Pharaohs: Therapeutic potential of black cumin seeds and beyond*. *Cancer Ther*, 2008. **6**(b): p. 495-510.
8. Salem, M.L., *Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed*. *Int Immunopharmacol*, 2005. **5**(13-14): p. 1749-70.
9. Pline, *Histoire Naturelle*, in *Bibliothèque Latin-Français*, C.L.F. Panckoucke, Editor. 1832: Paris. p. 235,244-245.
10. Ruggio, M. and L. DeSantis-Then, *Complementary and alternative medicine: longstanding legal obstacles to cutting edge treatment*. *J Health Life Sci Law*, 2009. **2**(4): p. 137, 139-70.
11. Ghedira, K. and R.L. Jeune, *Huile de nigelle cultivée, Nigella sativa L. (Ranunculaceae)*. *Phytothérapie*, 2010. **8**: p. 124-128.
12. Zaid, H., et al., *Greco-arab and islamic herbal-derived anticancer modalities: from tradition to molecular mechanisms*. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012. **2012**: p. 349040.
13. Abbara, A. *Nigelle de Damas*. 2011; Available from: http://www.aly-abbara.com/voyages_personnels/syrie/plantes/nigelle_de_Damas.html.
14. Dioscoride, *The Herbal of Dioscorides the Greek*, in *De materia medica*. p. 472.
15. Chamseddine, A., ed. *La Curation par la Graine Noire*. 2003, Dar al Kotob al Ilmiyah: Beyrouth, Liban.
16. Kokdil, G., *Morphology and stem anatomy of some species of genus Nigella L. in Turkey*. *J Faculty of Pharmacy of Ankara*, 2006. **35**(1): p. 19-41.
17. Pasha, H.S., *La guérison par la graine noire, entre le miracle prophétique et la médecine moderne*. 5e ed. 2008, Paris: Edition Sana.
18. Schleicher, P. and M. Saleh, *Guérir au Naturel avec le Cumin Noir d'Egypte*. 2003, Paris: Médicis.
19. Orientica, *Guérir par la graine noire*. 2010, Paris: Orientica. 64.
20. Tariq, M., *Nigella Sativa Seeds : Folklore Treatment in Modern Day Medicine*. *Saudi J Gastroenterol*, 2008. **14**(3): p. 105-106.
21. Ibn-Baytâr, *Kitâb al-jamî' lî-moufradât l-adwiyâ wa l-aghdhîya - La compilation des mots médicaux et des aliments*.
22. Mouslim, *Sahih Mouslim*, Darussalam. p. #2215.
23. Ibn-Qayyim, *L'authentique de La Médecine Prophétique, tiré de "Zadou l-ma'âd fi hadî khayri l-'ibâd, La provision du retour suivant la bonne voie du meilleurs des serviteurs "*. 2010: Tawbah. 351.
24. Al-Moubâarakfoûrî, M., *Toufat al-Ahwadhî*. 2008, Dar al-Fikr. p. 6:12 193-195.
25. Delisle, R. *Hippocrate, la théorie des humeurs*. 2005; Available from: <http://www.lettres.ac-versailles.fr/spip.php?article99>.
26. Spitz, S. *Théorie des Humeurs*. Available from: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/theorie-des-humeurs/>.
27. Avicenne, in *Canon de la médecine*.

28. el-Sayed, Y.M. and S.I. Islam, *Effect of age and renal function on gentamicin pharmacokinetic parameters*. Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol, 1989. **27**(10): p. 503-9.
29. Topozada, H.H., H.A. Mazloum, and M. el-Dakhkhny, *The antibacterial properties of the Nigella sativa l. seeds. Active principle with some clinical applications*. J Egypt Med Assoc, 1965. **48**: p. Suppl:187-202.
30. Toama, M.A. and K.B. Raper, *Microcysts of the cellular slime mold Polysphondylium pallidum. I. Factors influencing microcyst formation*. J Bacteriol, 1967. **94**(4): p. 1143-9.
31. Islam, S.K., et al., *Antifungal activities of the oils of Nigella sativa seeds*. Pak J Pharm Sci, 1989. **2**(1): p. 25-8.
32. Agrawala, I.P., et al., *Galactagogue action of Cuminum cyminum and Nigella sativa*. Indian J Med Res, 1968. **56**(6): p. 841-4.
33. Agrawala, I.P., M.V. Achar, and B.P. Tamankar, *Galactagogue action of Nigella sativa*. Indian J Med Sci, 1971. **25**(8): p. 535-7.
34. el-Dakhkhny, M., *Studies on the Egyptian Nigella sativa L. IV. Some pharmacological properties of the seeds' active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer*. Arzneimittelforschung, 1965. **15**(10): p. 1227-9.
35. El-Fataty, H.M., *Isolation and structure assignment of an antimicrobial principle from the volatile oil of Nigella sativa L. seeds*. Pharmazie, 1975. **30**(2): p. 109-11.
36. Aroma-Zone. Available from: <http://www.aroma-zone.com/aroma/ficheHVnigelle.asp>.
37. Nigelle.fr. Available from: <http://www.nigelle.fr/9-les-produits-a-base-de-nigelle>.
38. Antoinette. 2012; Available from: <http://www.supertoinette.com/fiche-cuisine/246/nigelle.html>.
39. Féminin, F.A. Nigelle. 2005; Available from: http://forum.aufeminin.com/forum/sante7/_f126_sante7-Nigelle.html.
40. Ibrâhîm Al-Azraq, *Tas-hilou l-manfi' fi t-tibi wa l-hikma, La simplification des procédés de guérison dans la médecine et dans la profession de médecin*.
41. Chan, E., et al., *Interactions between traditional Chinese medicines and Western therapeutics*. Curr Opin Drug Discov Devel, 2010. **13**(1): p. 50-65.
42. Dawoud-al-Antâkî, *Tadhkirat oulî l-albâb wa l-jamî' lî l-a'jâbi l-ou'jab, La memento des intelligents et l'accumulateur des plus merveilleuses des choses*.
43. Ibn-Jezla, *Al-Minhâj, La Méthode*.
44. Adh-Dhahâbî, *At-Tibou n-Nabawî, La Médecine Prophétique*.
45. Al-Ghassânî, *Hadîqat l-'azhâr fi mâhiyyati al 'ouchab wal 'aqqâr*.
46. Al-Ghassânî, *Al-Mou'tamad fi l-adwiya l-moufradah*.
47. Lieutaghi, P. Renoncules. Available from: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/renoncules/>.
48. *Informations sur l'intoxication : renoncule scélérate*. 2009; Available from: http://www.cbif.gc.ca/pls/pp/ppack.info?p_psn=242&p_type=all&p_sci=comm&p_x=px&p_lang=fr.
49. Chan, T.Y., *Aconite poisoning*. Clin Toxicol (Phila), 2009. **47**(4): p. 279-85.
50. Kökdil, G. and H. Yilmaz, *Analysis of the fixed oils of the genus Nigella L. (Ranunculaceae) in Turkey*. Biochem Syst Ecol, 2005. **33**: p. 1203-1209.
51. Abbara, A., 2011.
52. *Le genre Nigella*. 2005; Available from: http://www.plantes-botanique.org/genre_Nigella.
53. Weiss, E.A., ed. *Spice crops*. CABI Publishing ed. 2002, CABI Publishing: New York.
54. Atta, M.B., *Some characteristics of nigella (Nigella sativa L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile*. Food Chem, 2003. **83**: p. 63-68.
55. Cheikh-Rouhou, S., et al., *Nigella sativa L. : Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction*. Food Chem, 2006(101): p. 673-681.

56. Khoddami, A., et al., *Physicochemical Characteristics of Nigella Seed (Nigella sativa L.) Oil as Affected by Different Extraction Methods*. J Am Oil Chem Soc, 2011. **88**: p. 533-540.
57. MM, M.H., S.M. El-Shami, and M.H. El-Mallah, *Investigation of lipids profiles of Nigella, lupin and artichoke seed oils to be used as healthy oils*. J Oleo Sci, 2011. **60**(3): p. 99-107.
58. Ramadan, M.F. and J.T. Morsel, *Characterization of phospholipid composition of black cumin (Nigella sativa L.) seed oil*. Nahrung, 2002. **46**(4): p. 240-4.
59. Al-Jasass, F.M. and M.S. Al-Jasser, *Chemical composition and fatty acid content of some spices and herbs under Saudi Arabia conditions*. ScientificWorldJournal, 2012. **2012**: p. 859892.
60. Ramadan, M.F., *Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (Nigella sativa L.) : an overview*. Int J Food Sci Tech, 2007. **42**: p. 1208-1218.
61. Singh, S., et al., *Composition, in vitro antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and oleoresins obtained from black cumin seeds (Nigella sativa L.)*. Biomed Res Int, 2014. **2014**: p. 918209.
62. Skander, N. and C.E. Chitour, *Equivalent Carbon Number : A new parameter to characterise narrow petroleum fractions*. Entropie, 2000. **36**: p. 32-35.
63. Nickavar, B., et al., *Chemical composition of the fixed and volatile oils of Nigella sativa L. from Iran*. Z Naturforsch C, 2003. **58**(9-10): p. 629-31.
64. Ramadan, M.F. and J.-T. Mörsel, *Analysis of glycolipids from black cumin (Nigella sativa L.), coriander (Coriandrum sativum L.) and niger (Guizotia abyssinica Cass.) oilseeds*. Food Chem, 2003. **80**: p. 197-204.
65. Tulukcu, E., *A comparative study on fatty acid composition of black cumin obtained from different regions of Turkey, Iran and Syria*. Afr J Agr R, 2011. **6**(4): p. 892-895.
66. Ali, B.H. and G. Blunden, *Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa*. Phytother Res, 2003. **17**(4): p. 299-305.
67. Ramadan, M.F., L.W. Kroh, and J.T. Morsel, *Radical scavenging activity of black cumin (Nigella sativa L.), coriander (Coriandrum sativum L.), and niger (Guizotia abyssinica Cass.) crude seed oils and oil fractions*. J Agric Food Chem, 2003. **51**(24): p. 6961-9.
68. Ramadan, M.F. and J.-T. Mörsel, *Neutral lipid classes of black cumin (Nigella sativa L.) seed oils*. Eur Food Res Technol, 2002(214): p. 202-206.
69. Mehta, B.K., et al., *Isolation and characterization of new compounds from seeds of Nigella sativa*. Med Chem Res, 2008. **17**: p. 462-473.
70. Xue, W., et al., *The investment in scent: time-resolved metabolic processes in developing volatile-producing Nigella sativa L. seeds*. PLoS One, 2013. **8**(9): p. e73061.
71. Al-Gaby, A.M., *Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with Nigella sativa (black cumin) cake protein*. Nahrung, 1998. **42**(5): p. 290-4.
72. Oshchepkova Iu, I., et al., *[Isolation of the lipid-transporting protein Ns-LTP1 from seeds of the garden fennel flower (Nigella sativa)]*. Bioorg Khim, 2009. **35**(3): p. 344-9.
73. Al-Saleh, I., G. Billedo, and I.I. El-Doush, *Levels of selenium, DL- α -tocopherol, DL- γ -tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brants of Nigella sativa seeds*. J Food Compos Anal, 2006. **19**: p. 167-175.
74. Takruri, H.R.H. and M.A.F. Dameh, *Study of the nutritional value of black cumin seeds (Nigella sativa L.)*. J Sci Food Agr, 1998. **76**(3): p. 404-410.
75. Al-Jassir, S.M., *Chemical compisition and microflora of black cumin (Nigella sativa L.) seeds growing in Saudi Arabia*. Food Chem, 1992. **45**: p. 239-242.
76. Toama, M.A., T.S. El-Alfy, and H.M. El-Fatatry, *Antimicrobial activity of the volatile oil of Nigella sativa Linneaus seeds*. Antimicrob Agents Chemother, 1974. **6**(2): p. 225-6.
77. Morel, J.-M., *Traité pratique de phytothérapie*. 2008, Paris: Grancher. 620.
78. Kumara, S.S. and B.T. Huat, *Extraction, isolation and characterisation of antitumor principle, alpha-hederin, from the seeds of Nigella sativa*. Planta Med, 2001. **67**(1): p. 29-32.

79. Ali, Z., et al., *Nigellidine-4-O-sulfite, the first sulfated indazole-type alkaloid from the seeds of Nigella sativa*. J Nat Prod, 2008. **71**(6): p. 1111-2.
80. Botnick, I., et al., *Distribution of primary and specialized metabolites in Nigella sativa seeds, a spice with vast traditional and historical uses*. Molecules, 2012. **17**(9): p. 10159-77.
81. Sen, S., *The Role of Antioxidants in Human Health*, in *In Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy*. 2011, American Chemical Society: Washington, DC.
82. Massart, A., *Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo*, in *Val de Loire*. 2011, Université d'Orléans: Orléans. p. 191.
83. Communication, E. *Bases scientifiques sur le régime méditerranéen, les acides gras monoinsaturés, les antioxydants et l'oxydation des LDL*.
84. Woyengo, T., *Anticancer effects of phytosterols*. Eur J Clin Nutr, 2009. **63**: p. 813-820.
85. Riccioni, G., et al., *Carotenoids and vitamins C and E in the prevention of cardiovascular disease*. Int J Vitam Nutr Res, 2012. **82**(1): p. 15-26.
86. Gonzalez-Burgos, E., *Terpene compounds in nature: a review of their potential antioxidant activity*. Curr Med Chem, 2012. **19**(31): p. 5319-5341.
87. Cillard, J., *Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations*. Oléagineux, Corps Gras, Lipides, 2006. **13**(1).
88. Houghton, P.J., et al., *Fixed oil of Nigella sativa and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation*. Planta Med, 1995. **61**(1): p. 33-6.
89. Badary, O.A., et al., *Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger*. Drug Chem Toxicol, 2003. **26**(2): p. 87-98.
90. Suboh, S.M., Y.Y. Bilito, and T.A. Aburjai, *Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes*. Phytother Res, 2004. **18**(4): p. 280-4.
91. Kanter, M., et al., *Effects of Nigella sativa L. and Urtica dioica L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl4-treated rats*. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med, 2003. **50**(5): p. 264-8.
92. Kanter, M., O. Coskun, and M. Budancamanak, *Hepatoprotective effects of Nigella sativa L and Urtica dioica L on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats*. World J Gastroenterol, 2005. **11**(42): p. 6684-8.
93. Hosseinzadeh, H., et al., *Effect of thymoquinone and Nigella sativa seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus*. Phytomedicine, 2007. **14**(9): p. 621-7.
94. Kanter, M., et al., *Effects of Nigella sativa on oxidative stress and beta-cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats*. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol, 2004. **279**(1): p. 685-91.
95. Nagi, M.N. and M.A. Mansour, *Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: a possible mechanism of protection*. Pharmacol Res, 2000. **41**(3): p. 283-9.
96. Ismail, M., G. Al-Naqeep, and K.W. Chan, *Nigella sativa thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats*. Free Radic Biol Med, 2010. **48**(5): p. 664-72.
97. Kanter, M., O. Coskun, and H. Uysal, *The antioxidative and antihistaminic effect of Nigella sativa and its major constituent, thymoquinone on ethanol-induced gastric mucosal damage*. Arch Toxicol, 2006. **80**(4): p. 217-24.
98. El-Mahmoudy, A., et al., *Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages*. Int Immunopharmacol, 2002. **2**(11): p. 1603-11.
99. Bayrak, O., et al., *Nigella sativa protects against ischaemia/reperfusion injury in rat kidneys*. Nephrol Dial Transplant, 2008. **23**(7): p. 2206-12.

100. Hosseinzadeh, H., S. Taiari, and M. Nassiri-Asl, *Effect of thymoquinone, a constituent of Nigella sativa L., on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle*. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2012. **385**(5): p. 503-8.
101. Ashraf, S.S., et al., *Nigella sativa extract as a potent antioxidant for petrochemical-induced oxidative stress*. J Chromatogr Sci, 2011. **49**(4): p. 321-6.
102. Kanter, M., O. Coskun, and A. Gurel, *Effect of black cumin (Nigella sativa) on cadmium-induced oxidative stress in the blood of rats*. Biol Trace Elem Res, 2005. **107**(3): p. 277-87.
103. Kanter, M., *Effects of Nigella sativa seed extract on ameliorating lung tissue damage in rats after experimental pulmonary aspirations*. Acta Histochem, 2009. **111**(5): p. 393-403.
104. Ragheb, A., et al., *The protective effect of thymoquinone, an anti-oxidant and anti-inflammatory agent, against renal injury: a review*. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2009. **20**(5): p. 741-52.
105. Yildiz, F., et al., *Nigella sativa relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver*. World J Gastroenterol, 2008. **14**(33): p. 5204-9.
106. Yildiz, F., et al., *Protective effects of Nigella sativa against ischemia-reperfusion injury of kidneys*. Ren Fail, 2010. **32**(1): p. 126-31.
107. Terzi, A., et al., *Protective effects of Nigella sativa on intestinal ischemia-reperfusion injury in rats*. J Invest Surg, 2010. **23**(1): p. 21-7.
108. Ersahin, M., et al., *The effects of Nigella sativa against oxidative injury in a rat model of subarachnoid hemorrhage*. Acta Neurochir (Wien), 2011. **153**(2): p. 333-41.
109. Karimi, G., et al., *Protective effects of aqueous and ethanolic extracts of Nigella sativa L. and Portulaca oleracea L. on free radical induced hemolysis of RBCs*. Daru, 2011. **19**(4): p. 295-300.
110. Awad, A.S., R. Kamel, and M.A. Sherief, *Effect of thymoquinone on hepatorenal dysfunction and alteration of CYP3A1 and spermidine/spermine N-1-acetyl-transferase gene expression induced by renal ischaemia-reperfusion in rats*. J Pharm Pharmacol, 2011. **63**(8): p. 1037-42.
111. Khalife, K.H. and G. Lupidi, *Nonenzymatic reduction of thymoquinone in physiological conditions*. Free Radic Res, 2007. **41**(2): p. 153-61.
112. Chakravarty, N., *Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone*. Ann Allergy, 1993. **70**(3): p. 237-42.
113. Galhena, P.B., et al., *Anti-Inflammatory Activity Is a Possible Mechanism by Which the Polyherbal Formulation Comprised of Nigella sativa (Seeds), Hemidesmus indicus (Root), and Smilax glabra (Rhizome) Mediates Its Antihepatocarcinogenic Effects*. Evid Based Complement Alternat Med, 2012. **2012**: p. 108626.
114. Hayat, K., et al., *Ameliorative effect of thymoquinone on ovalbumin-induced allergic conjunctivitis in Balb/c mice*. Curr Eye Res, 2011. **36**(7): p. 591-8.
115. El-Dakhakhny, M., et al., *Nigella sativa oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats*. J Ethnopharmacol, 2002. **81**(2): p. 161-4.
116. Mansour, M. and S. Tornhamre, *Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone*. J Enzyme Inhib Med Chem, 2004. **19**(5): p. 431-6.
117. El Gazzar, M., et al., *Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma*. Biochim Biophys Acta, 2006. **1760**(7): p. 1088-95.
118. El Mezayen, R., et al., *Effect of thymoquinone on cyclooxygenase expression and prostaglandin production in a mouse model of allergic airway inflammation*. Immunol Lett, 2006. **106**(1): p. 72-81.
119. Chehl, N., et al., *Anti-inflammatory effects of the Nigella sativa seed extract, thymoquinone, in pancreatic cancer cells*. HPB (Oxford), 2009. **11**(5): p. 373-81.

120. Marsik, P., et al., *In vitro* inhibitory effects of thymol and quinones of *Nigella sativa* seeds on cyclooxygenase-1- and -2-catalyzed prostaglandin E2 biosyntheses. *Planta Med*, 2005. **71**(8): p. 739-42.
121. Landa, P., et al., *Evaluation of antimicrobial and anti-inflammatory activities of seed extracts from six Nigella species*. *J Med Food*, 2009. **12**(2): p. 408-15.
122. Tekeoglu, I., A. Dogan, and L. Demiralp, *Effects of thymoquinone (volatile oil of black cumin) on rheumatoid arthritis in rat models*. *Phytother Res*, 2006. **20**(10): p. 869-71.
123. El Gazzar, M.A., *Thymoquinone suppresses in vitro production of IL-5 and IL-13 by mast cells in response to lipopolysaccharide stimulation*. *Inflamm Res*, 2007. **56**(8): p. 345-51.
124. Keyhanmanesh, R., et al., *Effect of thymoquinone on the lung pathology and cytokine levels of ovalbumin-sensitized guinea pigs*. *Pharmacol Rep*, 2010. **62**(5): p. 910-6.
125. Albensi, B.C., *Evidence for the involvement of TNF and NF-kappaB in hippocampal synaptic plasticity*. *Synapse*, 2000. **35**: p. 151-159.
126. Sethi, G., K.S. Ahn, and B.B. Aggarwal, *Targeting nuclear factor-kappa B activation pathway by thymoquinone: role in suppression of antiapoptotic gene products and enhancement of apoptosis*. *Mol Cancer Res*, 2008. **6**(6): p. 1059-70.
127. Wilkins, R., M. Tucci, and H. Benghuzzi, *Role of plant-derived antioxidants on NF-kb expression in LPS-stimulated macrophages - biomed 2011*. *Biomed Sci Instrum*, 2011. **47**: p. 222-7.
128. El Gazzar, M.A., et al., *Thymoquinone attenuates proinflammatory responses in lipopolysaccharide-activated mast cells by modulating NF-kappaB nuclear transactivation*. *Biochim Biophys Acta*, 2007. **1770**(4): p. 556-64.
129. Bai, T., et al., *Thymoquinone attenuates liver fibrosis via PI3K and TLR4 signaling pathways in activated hepatic stellate cells*. *Int Immunopharmacol*, 2013. **15**(2): p. 275-81.
130. El-Obeid, A., et al., *Effect of herbal melanin on IL-8: a possible role of Toll-like receptor 4 (TLR4)*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006. **344**(4): p. 1200-6.
131. Mohamed, A., et al., *Thymoquinone inhibits the activation of NF-kappaB in the brain and spinal cord of experimental autoimmune encephalomyelitis*. *Biomed Sci Instrum*, 2005. **41**: p. 388-93.
132. Vaillancourt, F., et al., *Elucidation of molecular mechanisms underlying the protective effects of thymoquinone against rheumatoid arthritis*. *J Cell Biochem*, 2011. **112**(1): p. 107-17.
133. Kundu, J.K., et al., *Thymoquinone inhibits phorbol ester-induced activation of NF-kappaB and expression of COX-2, and induces expression of cytoprotective enzymes in mouse skin in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013. **438**(4): p. 721-7.
134. Alemi, M., et al., *Anti-inflammatory effect of seeds and callus of Nigella sativa L. extracts on mix glial cells with regard to their thymoquinone content*. *AAPS PharmSciTech*, 2013. **14**(1): p. 160-7.
135. Ozugurlu, F., et al., *The effect of Nigella sativa oil against experimental allergic encephalomyelitis via nitric oxide and other oxidative stress parameters*. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2005. **51**(3): p. 337-42.
136. Al-Ghamdi, M.S., *The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of Nigella sativa*. *J Ethnopharmacol*, 2001. **76**(1): p. 45-8.
137. Dirjomuljono, M., et al., *Symptomatic treatment of acute tonsillo-pharyngitis patients with a combination of Nigella sativa and Phyllanthus niruri extract*. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2008. **46**(6): p. 295-306.
138. Umar, S., et al., *Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response by thymoquinone in the collagen induced arthritis in Wistar rats*. *Chem Biol Interact*, 2012. **197**(1): p. 40-6.

139. Chen, W.P., et al., *Thymoquinone inhibits matrix metalloproteinase expression in rabbit chondrocytes and cartilage in experimental osteoarthritis*. *Exp Biol Med* (Maywood), 2010. **235**(12): p. 1425-31.
140. Gheita, T.A. and S.A. Kenawy, *Effectiveness of Nigella sativa oil in the management of rheumatoid arthritis patients: a placebo controlled study*. *Phytother Res*, 2012. **26**(8): p. 1246-8.
141. Shuid, A.N., et al., *Nigella sativa: A Potential Antiosteoporotic Agent*. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012. **2012**: p. 696230.
142. Seif, A.A., *Nigella Sativa reverses osteoporosis in ovariectomized rats*. *BMC Complement Altern Med*, 2014. **14**: p. 22.
143. Altan, M.F., et al., *Combination therapy of Nigella sativa and human parathyroid hormone on bone mass, biomechanical behavior and structure in streptozotocin-induced diabetic rats*. *Acta Histochem*, 2007. **109**(4): p. 304-14.
144. Ozdemir, E., *Preventive effects of thymoquinone in a rat periodontitis model: a morphometric and histopathological study*. *J Periodontal Res*, 2012. **47**(1): p. 74-80.
145. Kirui, P.K., et al., *Effects of sustained delivery of thymoquinone on bone healing of male rats*. *Biomed Sci Instrum*, 2004. **40**: p. 111-6.
146. Kara, M.I., et al., *Thymoquinone accelerates new bone formation in the rapid maxillary expansion procedure*. *Arch Oral Biol*, 2012. **57**(4): p. 357-63.
147. Khan, M.A., et al., *Anticancer activities of Nigella sativa (black cumin)*. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2011. **8**(5 Suppl): p. 226-32.
148. Randhawa, M.A. and M.S. Alghamdi, *Anticancer activity of Nigella sativa (black seed) - a review*. *Am J Chin Med*, 2011. **39**(6): p. 1075-91.
149. Woo, C.C., et al., *Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer*. *Biochem Pharmacol*, 2012. **83**(4): p. 443-51.
150. Salomi, N.J., et al., *Antitumour principles from Nigella sativa seeds*. *Cancer Lett*, 1992. **63**(1): p. 41-6.
151. Danloy, S., et al., *Effects of alpha-hederin, a saponin extracted from Hedera helix, on cells cultured in vitro*. *Planta Med*, 1994. **60**(1): p. 45-9.
152. Gali-Muhtasib, H., et al., *Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism*. *Int J Oncol*, 2004. **25**(4): p. 857-66.
153. Alhosin, M., et al., *Induction of apoptosis by thymoquinone in lymphoblastic leukemia Jurkat cells is mediated by a p73-dependent pathway which targets the epigenetic integrator UHRF1*. *Biochem Pharmacol*, 2010. **79**(9): p. 1251-60.
154. Rooney, S. and M.F. Ryan, *Effects of alpha-hederin and thymoquinone, constituents of Nigella sativa, on human cancer cell lines*. *Anticancer Res*, 2005. **25**(3B): p. 2199-204.
155. Kaseb, A.O., et al., *Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer*. *Cancer Res*, 2007. **67**(16): p. 7782-8.
156. Raghunandhakumar, S., et al., *Thymoquinone inhibits cell proliferation through regulation of G1/S phase cell cycle transition in N-nitrosodiethylamine-induced experimental rat hepatocellular carcinoma*. *Toxicol Lett*, 2013. **223**(1): p. 60-72.
157. Gali-Muhtasib, H.U., et al., *Molecular pathway for thymoquinone-induced cell-cycle arrest and apoptosis in neoplastic keratinocytes*. *Anticancer Drugs*, 2004. **15**(4): p. 389-99.
158. Roepke, M., et al., *Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells*. *Cancer Biol Ther*, 2007. **6**(2): p. 160-9.
159. Arafa el, S.A., et al., *Thymoquinone up-regulates PTEN expression and induces apoptosis in doxorubicin-resistant human breast cancer cells*. *Mutat Res*, 2011. **706**(1-2): p. 28-35.
160. El-Mahdy, M.A., et al., *Thymoquinone induces apoptosis through activation of caspase-8 and mitochondrial events in p53-null myeloblastic leukemia HL-60 cells*. *Int J Cancer*, 2005. **117**(3): p. 409-17.

161. el-Aziz, M.A., et al., *The biochemical and morphological alterations following administration of melatonin, retinoic acid and Nigella sativa in mammary carcinoma: an animal model*. Int J Exp Pathol, 2005. **86**(6): p. 383-96.
162. Hassan, S.A., *In vitro challenge using thymoquinone on hepatocellular carcinoma (HepG2) cell line*. Iran J Pharm, 2008. **7**(4): p. 283-290.
163. Samarakoon, S.R., et al., *Modulation of apoptosis in human hepatocellular carcinoma (HepG2 cells) by a standardized herbal decoction of Nigella sativa seeds, Hemidesmus indicus roots and Smilax glabra rhizomes with anti-hepatocarcinogenic effects*. BMC Complement Altern Med, 2012. **12**: p. 25.
164. Salim, L.Z., et al., *Thymoquinone induces mitochondria-mediated apoptosis in acute lymphoblastic leukaemia in vitro*. Molecules, 2013. **18**(9): p. 11219-40.
165. Woo, C.C., et al., *Anticancer activity of thymoquinone in breast cancer cells: possible involvement of PPAR-gamma pathway*. Biochem Pharmacol, 2011. **82**(5): p. 464-75.
166. Hasan, T.N., et al., *Methanolic extract of Nigella sativa seed inhibits SiHa human cervical cancer cell proliferation through apoptosis*. Nat Prod Commun, 2013. **8**(2): p. 213-6.
167. Koka, P.S., et al., *Studies on molecular mechanisms of growth inhibitory effects of thymoquinone against prostate cancer cells: role of reactive oxygen species*. Exp Biol Med (Maywood), 2010. **235**(6): p. 751-60.
168. Racoma, I.O., et al., *Thymoquinone inhibits autophagy and induces cathepsin-mediated, caspase-independent cell death in glioblastoma cells*. PLoS One, 2013. **8**(9): p. e72882.
169. Paramasivam, A., et al., *Anti-cancer effects of thymoquinone in mouse neuroblastoma (Neuro-2a) cells through caspase-3 activation with down-regulation of XIAP*. Toxicol Lett, 2012. **213**(2): p. 151-9.
170. Yi, T., et al., *Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways*. Mol Cancer Ther, 2008. **7**(7): p. 1789-96.
171. Xuan, N.T., et al., *Effect of thymoquinone on mouse dendritic cells*. Cell Physiol Biochem, 2010. **25**(2-3): p. 307-14.
172. Hussain, A.R., et al., *Thymoquinone suppresses growth and induces apoptosis via generation of reactive oxygen species in primary effusion lymphoma*. Free Radic Biol Med, 2011. **50**(8): p. 978-87.
173. Rajput, S., et al., *Molecular targeting of Akt by thymoquinone promotes G(1) arrest through translation inhibition of cyclin D1 and induces apoptosis in breast cancer cells*. Life Sci, 2013. **93**(21): p. 783-90.
174. Ting, B., *Thymoquinone attenuates liver fibrosis via PI3K and TLR4 signaling pathways in activated hepatic stellate cells*. Int Immunopharmacol, 2013. **15**(2): p. 275-281.
175. Badary, O.A. and A.M. Gamal El-Din, *Inhibitory effects of thymoquinone against 20-methylcholanthrene-induced fibrosarcoma tumorigenesis*. Cancer Detect Prev, 2001. **25**(4): p. 362-8.
176. Thabrew, M.I., et al., *Cytotoxic effects of a decoction of Nigella sativa, Hemidesmus indicus and Smilax glabra on human hepatoma HepG2 cells*. Life Sci, 2005. **77**(12): p. 1319-30.
177. El-Najjar, N., et al., *Reactive oxygen species mediate thymoquinone-induced apoptosis and activate ERK and JNK signaling*. Apoptosis, 2010. **15**(2): p. 183-95.
178. Yu, S.M. and S.J. Kim, *Thymoquinone-induced reactive oxygen species causes apoptosis of chondrocytes via PI3K/Akt and p38kinase pathway*. Exp Biol Med (Maywood), 2013. **238**(7): p. 811-20.
179. Hussain, A.R., et al., *Phosphorylated IkappaBalpha predicts poor prognosis in activated B-cell lymphoma and its inhibition with thymoquinone induces apoptosis via ROS release*. PLoS One, 2013. **8**(3): p. e60540.

180. Zubair, H., et al., *Redox cycling of endogenous copper by thymoquinone leads to ROS-mediated DNA breakage and consequent cell death: putative anticancer mechanism of antioxidants*. *Cell Death Dis*, 2013. **4**: p. e660.
181. Woo, C.C., et al., *Thymoquinone inhibits tumor growth and induces apoptosis in a breast cancer xenograft mouse model: the role of p38 MAPK and ROS*. *PLoS One*, 2013. **8**(10): p. e75356.
182. Swamy, S.M. and B.T. Huat, *Intracellular glutathione depletion and reactive oxygen species generation are important in alpha-hederin-induced apoptosis of P388 cells*. *Mol Cell Biochem*, 2003. **245**(1-2): p. 127-39.
183. Abusnina, A., et al., *Down-regulation of cyclic nucleotide phosphodiesterase PDE1A is the key event of p73 and UHRF1 deregulation in thymoquinone-induced acute lymphoblastic leukemia cell apoptosis*. *Cell Signal*, 2011. **23**(1): p. 152-60.
184. Li, F., P. Rajendran, and G. Sethi, *Thymoquinone inhibits proliferation, induces apoptosis and chemosensitizes human multiple myeloma cells through suppression of signal transducer and activator of transcription 3 activation pathway*. *Br J Pharmacol*, 2010. **161**(3): p. 541-54.
185. Badr, G., M. Mohany, and F. Abu-Tarboush, *Thymoquinone decreases F-actin polymerization and the proliferation of human multiple myeloma cells by suppressing STAT3 phosphorylation and Bcl2/Bcl-XL expression*. *Lipids Health Dis*, 2011. **10**: p. 236.
186. Badr, G., E.A. Lefevre, and M. Mohany, *Thymoquinone inhibits the CXCL12-induced chemotaxis of multiple myeloma cells and increases their susceptibility to Fas-mediated apoptosis*. *PLoS One*, 2011. **6**(9): p. e23741.
187. Lang, M., et al., *Thymoquinone attenuates tumor growth in ApcMin mice by interference with Wnt-signaling*. *Mol Cancer*, 2013. **12**(1): p. 41.
188. Genever, P., *Canonical Wnt signalling*, Biomedical Tissue Research Group.
189. Cecaririn, V., *Effects of thymoquinone on isolated proteasomes*. *FEBS J*, 2010. **277**(9): p. 2128-2141.
190. Torres, M.P., et al., *Effects of thymoquinone in the expression of mucin 4 in pancreatic cancer cells: implications for the development of novel cancer therapies*. *Mol Cancer Ther*, 2010. **9**(5): p. 1419-31.
191. Gurung, R.L., et al., *Thymoquinone induces telomere shortening, DNA damage and apoptosis in human glioblastoma cells*. *PLoS One*, 2010. **5**(8): p. e12124.
192. Ait Mbarek, L., et al., *Anti-tumor properties of blackseed (Nigella sativa L.) extracts*. *Braz J Med Biol Res*, 2007. **40**(6): p. 839-47.
193. Bawadi, H.A., *thymoquinone in the control of hypoxia-induced angiogenic disease biomarkers: insight into the mechanism of action in vitro.*, in *IFT Annual Meeting*. 2004: Las Vegas USA.
194. Peng, L., et al., *Antitumor and anti-angiogenesis effects of thymoquinone on osteosarcoma through the NF-kappaB pathway*. *Oncol Rep*, 2013. **29**(2): p. 571-8.
195. Gali-Muhtasib, H., et al., *Thymoquinone reduces mouse colon tumor cell invasion and inhibits tumor growth in murine colon cancer models*. *J Cell Mol Med*, 2008. **12**(1): p. 330-42.
196. Wu, Z.H., et al., *[Anti-metastasis effect of thymoquinone on human pancreatic cancer]*. *Yao Xue Xue Bao*, 2011. **46**(8): p. 910-4.
197. Jafri, S.H., et al., *Thymoquinone and cisplatin as a therapeutic combination in lung cancer: In vitro and in vivo*. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010. **29**: p. 87.
198. Kolli-Bouhafs, K., et al., *Thymoquinone reduces migration and invasion of human glioblastoma cells associated with FAK, MMP-2 and MMP-9 down-regulation*. *Invest New Drugs*, 2012. **30**(6): p. 2121-31.
199. Ahmad, I., et al., *Thymoquinone suppresses metastasis of melanoma cells by inhibition of NLRP3 inflammasome*. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013. **270**(1): p. 70-6.

200. Awad, E.M., *In vitro* decreases of the fibrinolytic potential of cultured human fibrosarcoma cell line, HT1080, by *Nigella sativa* oil. *Phytomedicine*, 2005. **12**(1-2): p. 100-7.
201. Sayed-Ahmed, M.M., et al., *Thymoquinone attenuates diethylnitrosamine induction of hepatic carcinogenesis through antioxidant signaling*. *Oxid Med Cell Longev*, 2010. **3**(4): p. 254-261.
202. Ray, G., et al., *Lipid peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer*. *Breast Cancer Res Treat*, 2000. **59**(2): p. 163-70.
203. Harzallah, H.J., et al., *Thymoquinone, the Nigella sativa bioactive compound, prevents circulatory oxidative stress caused by 1,2-dimethylhydrazine in erythrocyte during colon postinitiation carcinogenesis*. *Oxid Med Cell Longev*, 2012. **2012**: p. 854065.
204. Alenzi, F.Q., S. El-Bolkiny Yel, and M.L. Salem, *Protective effects of Nigella sativa oil and thymoquinone against toxicity induced by the anticancer drug cyclophosphamide*. *Br J Biomed Sci*, 2010. **67**(1): p. 20-8.
205. Cemek, M., et al., *In vivo radioprotective effects of Nigella sativa L oil and reduced glutathione against irradiation-induced oxidative injury and number of peripheral blood lymphocytes in rats*. *Photochem Photobiol*, 2006. **82**(6): p. 1691-6.
206. Assayed, M.E., *Radioprotective effects of black seed (Nigella sativa) oil against hemopoietic damage and immunosuppression in gamma-irradiated rats*. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2010. **32**(2): p. 284-96.
207. Rastogi, L., et al., *Protection against radiation-induced oxidative damage by an ethanolic extract of Nigella sativa L*. *Int J Radiat Biol*, 2010. **86**(9): p. 719-31.
208. Velho-Pereira, R., et al., *Radioprotection by Macerated Extract of Nigella sativa in Normal Tissues of Fibrosarcoma Bearing Mice*. *Indian J Pharm Sci*, 2012. **74**(5): p. 403-14.
209. Jani, K.S. and D.S. Dalafave, *Computational design of targeted inhibitors of polo-like kinase 1 (plk1)*. *Bioinform Biol Insights*, 2012. **6**: p. 23-31.
210. Chopra, P., et al., *Polo-like kinase inhibitors: an emerging opportunity for cancer therapeutics*. *Expert Opin Investig Drugs*, 2010. **19**(1): p. 27-43.
211. Degenhardt, Y. and T. Lampkin, *Targeting Polo-like kinase in cancer therapy*. *Clin Cancer Res*, 2010. **16**(2): p. 384-9.
212. Strebhardt, K., *Multifaceted polo-like kinases: drug targets and antitargets for cancer therapy*. *Nat Rev Drug Discov*, 2010. **9**(8): p. 643-60.
213. Weiss, L. and T. Efferth, *Polo-like kinase 1 as target for cancer therapy*. *Exp Hematol Oncol*, 2012. **1**(1): p. 38.
214. Rudolph, D., et al., *BI 6727, a Polo-like kinase inhibitor with improved pharmacokinetic profile and broad antitumor activity*. *Clin Cancer Res*, 2009. **15**(9): p. 3094-102.
215. Berg, T., *Small-molecule inhibitors of protein-protein interactions*. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2008. **11**(5): p. 666-74.
216. Schmit, T.L., M.C. Ledesma, and N. Ahmad, *Modulating polo-like kinase 1 as a means for cancer chemoprevention*. *Pharm Res*, 2010. **27**(6): p. 989-98.
217. Reindl, W., et al., *Inhibition of polo-like kinase 1 by blocking polo-box domain-dependent protein-protein interactions*. *Chem Biol*, 2008. **15**(5): p. 459-66.
218. Reindl, W., K. Strebhardt, and T. Berg, *A high-throughput assay based on fluorescence polarization for inhibitors of the polo-box domain of polo-like kinase 1*. *Anal Biochem*, 2008. **383**(2): p. 205-9.
219. Yuan, J., et al., *Polo-box domain inhibitor poloxin activates the spindle assembly checkpoint and inhibits tumor growth in vivo*. *Am J Pathol*, 2011. **179**(4): p. 2091-9.
220. Breyer, S., K. Effenberger, and R. Schobert, *Effects of thymoquinone-fatty acid conjugates on cancer cells*. *ChemMedChem*, 2009. **4**(5): p. 761-8.
221. Banerjee, S., et al., *Antitumor activity of gemcitabine and oxaliplatin is augmented by thymoquinone in pancreatic cancer*. *Cancer Res*, 2009. **69**(13): p. 5575-83.

222. Banerjee, S., et al., *Structure-activity studies on therapeutic potential of Thymoquinone analogs in pancreatic cancer*. *Pharm Res*, 2010. **27**(6): p. 1146-58.
223. Charour, O., *Synthesis, Design, and biological evaluation of thymoquinone derivatives and ON01910 derivatives as anticancer agents.* , in *National Cancer Research Institute Conference*. 2010: U.K.
224. Yusufi, M., et al., *Synthesis, characterization and anti-tumor activity of novel thymoquinone analogs against pancreatic cancer*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013. **23**(10): p. 3101-4.
225. Ravindran, J., et al., *Thymoquinone poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles exhibit enhanced anti-proliferative, anti-inflammatory, and chemosensitization potential*. *Biochem Pharmacol*, 2010. **79**(11): p. 1640-7.
226. Ganea, G.M., et al., *Delivery of phytochemical thymoquinone using molecular micelle modified poly(D, L lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles*. *Nanotechnology*, 2010. **21**(28): p. 285104.
227. Sutton, K.M., C.D. Doucette, and D.W. Hoskin, *NADPH quinone oxidoreductase 1 mediates breast cancer cell resistance to thymoquinone-induced apoptosis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012. **426**(3): p. 421-6.
228. Lei, X., et al., *Thymoquinone inhibits growth and augments 5-fluorouracil-induced apoptosis in gastric cancer cells both in vitro and in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012. **417**(2): p. 864-8.
229. Bun, S.S., et al., *Alpha-hederin potentiates 5-FU antitumor activity in human colon adenocarcinoma cells*. *Phytother Res*, 2008. **22**(10): p. 1299-302.
230. Nair, S.C., et al., *Modulatory effects of Crocus sativus and Nigella sativa extracts on cisplatin-induced toxicity in mice*. *J Ethnopharmacol*, 1991. **31**(1): p. 75-83.
231. Badary, O.A., et al., *Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity*. *Can J Physiol Pharmacol*, 1997. **75**(12): p. 1356-61.
232. el Daly, E.S., *Protective effect of cysteine and vitamin E, Crocus sativus and Nigella sativa extracts on cisplatin-induced toxicity in rats*. *J Pharm Belg*, 1998. **53**(2): p. 87-93; discussion 93-5.
233. Hadjzadeh, M.A., et al., *Effect of alcoholic extract of Nigella sativa on cisplatin-induced toxicity in rat*. *Iran J Kidney Dis*, 2012. **6**(2): p. 99-104.
234. Ulu, R., et al., *Regulation of renal organic anion and cation transporters by thymoquinone in cisplatin induced kidney injury*. *Food Chem Toxicol*, 2012. **50**(5): p. 1675-9.
235. Nagi, M.N., et al., *Thymoquinone supplementation attenuates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats*. *J Biochem Mol Toxicol*, 2011. **25**(3): p. 135-42.
236. al-Shabanah, O.A., et al., *Thymoquinone protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity without compromising its antitumor activity*. *J Exp Clin Cancer Res*, 1998. **17**(2): p. 193-8.
237. Badary, O.A., et al., *The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats*. *Toxicology*, 2000. **143**(3): p. 219-26.
238. Effenberger-Neidnicht, K. and R. Schobert, *Combinatorial effects of thymoquinone on the anti-cancer activity of doxorubicin*. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011. **67**(4): p. 867-74.
239. Mahmoud, S.S. and V.P. Torchilin, *Hormetic/Cytotoxic Effects of Nigella sativa Seed Alcoholic and Aqueous Extracts on MCF-7 Breast Cancer Cells Alone or in Combination with Doxorubicin*. *Cell Biochem Biophys*, 2012.
240. Badary, O.A., *Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice*. *J Ethnopharmacol*, 1999. **67**(2): p. 135-42.
241. Gokce, A., et al., *Protective effects of thymoquinone against methotrexate-induced testicular injury*. *Hum Exp Toxicol*, 2011. **30**(8): p. 897-903.
242. Velho-Pereira, R., et al., *Radiosensitization in human breast carcinoma cells by thymoquinone: role of cell cycle and apoptosis*. *Cell Biol Int*, 2011. **35**(10): p. 1025-9.

243. El-Beshbishy, H.A., et al., *Amelioration of tamoxifen-induced liver injury in rats by grape seed extract, black seed extract and curcumin*. Indian J Exp Biol, 2010. **48**(3): p. 280-8.
244. Rajput, S., et al., *Targeted apoptotic effects of thymoquinone and tamoxifen on XIAP mediated Akt regulation in breast cancer*. PLoS One, 2013. **8**(4): p. e61342.
245. Shafi, G., et al., *Induction of apoptosis in HeLa cells by chloroform fraction of seed extracts of Nigella sativa*. Cancer Cell Int, 2009. **9**: p. 29.
246. Effenberger, K., S. Breyer, and R. Schobert, *Terpene conjugates of the Nigella sativa seed-oil constituent thymoquinone with enhanced efficacy in cancer cells*. Chem Biodivers, 2010. **7**(1): p. 129-39.
247. Ng, W.K., L.S. Yazan, and M. Ismail, *Thymoquinone from Nigella sativa was more potent than cisplatin in eliminating of SiHa cells via apoptosis with down-regulation of Bcl-2 protein*. Toxicol In Vitro, 2011.
248. Sakalar, C., et al., *Pronounced transcriptional regulation of apoptotic and TNF-NF-kappa-B signaling genes during the course of thymoquinone mediated apoptosis in HeLa cells*. Mol Cell Biochem, 2013. **383**(1-2): p. 243-51.
249. Salim, E.I., *Cancer chemopreventive potential of volatile oil from black cumin seeds, Nigella sativa L., in a rat multi-organ carcinogenesis bioassay*. Oncol Lett, 2010. **1**(5): p. 913-924.
250. Salim, E.I. and S. Fukushima, *Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (Nigella sativa L.) seeds against rat colon carcinogenesis*. Nutr Cancer, 2003. **45**(2): p. 195-202.
251. Hassan, M.I., et al., *Antineoplastic effects of bee honey and Nigella sativa on hepatocellular carcinoma cells*. Integr Cancer Ther, 2012. **11**(4): p. 354-63.
252. Al-Sheddi, E.S., et al., *Cytotoxicity of Nigella sativa seed oil and extract against human lung cancer cell line*. Asian Pac J Cancer Prev, 2014. **15**(2): p. 983-7.
253. Farah, I.O. and R.A. Begum, *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**: p. 359-64.
254. Dilshad, A., et al., *Antiproliferative properties of methanolic extract of Nigella sativa against the MDA-MB-231 cancer cell line*. Asian Pac J Cancer Prev, 2012. **13**(11): p. 5839-42.
255. Motaghed, M., F.M. Al-Hassan, and S.S. Hamid, *Cellular responses with thymoquinone treatment in human breast cancer cell line MCF-7*. Pharmacognosy Res, 2013. **5**(3): p. 200-6.
256. Badary, O.A., et al., *Inhibition of benzo(a)pyrene-induced forestomach carcinogenesis in mice by thymoquinone*. Eur J Cancer Prev, 1999. **8**(5): p. 435-40.
257. Nagi, M.N. and H.A. Almakki, *Thymoquinone supplementation induces quinone reductase and glutathione transferase in mice liver: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity*. Phytother Res, 2009. **23**(9): p. 1295-8.
258. Salomi, M.J., S.C. Nair, and K.R. Panikkar, *Inhibitory effects of Nigella sativa and saffron (Crocus sativus) on chemical carcinogenesis in mice*. Nutr Cancer, 1991. **16**(1): p. 67-72.
259. Mabrouk, G.M., et al., *Inhibition of methylnitrosourea (MNU) induced oxidative stress and carcinogenesis by orally administered bee honey and Nigella grains in Sprague Dawely rats*. J Exp Clin Cancer Res, 2002. **21**(3): p. 341-6.
260. Khan, N. and S. Sultana, *Inhibition of two stage renal carcinogenesis, oxidative damage and hyperproliferative response by Nigella sativa*. Eur J Cancer Prev, 2005. **14**(2): p. 159-68.
261. Al-Amri, A.M., *Phase I safety and clinical activity study of thymoquinone in patients with advanced refractory malignant disease*. Shiraz E-Med, 2009. **10**: p. 107-111.
262. El-Dakhakhny, M., et al., *Effects of Nigella sativa oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats*. J Ethnopharmacol, 2000. **72**(1-2): p. 299-304.
263. Marozzi, F.J., Jr., A.B. Kocialski, and M.H. Malone, *Studies on the antihistaminic effects of thymoquinone, thymohydroquinone and quercetin*. Arzneimittelforschung, 1970. **20**(10): p. 1574-7.

264. Abbas, A.T., et al., *Effect of dexamethasone and Nigella sativa on peripheral blood eosinophil count, IgG1 and IgG2a, cytokine profiles and lung inflammation in murine model of allergic asthma*. Egypt J Immunol, 2005. **12**(1): p. 95-102.
265. Duncker, S.C., et al., *Nigella sativa (black cumin) seed extract alleviates symptoms of allergic diarrhea in mice, involving opioid receptors*. PLoS One, 2012. **7**(6): p. e39841.
266. Isik, H., et al., *Potential adjuvant effects of Nigella sativa seeds to improve specific immunotherapy in allergic rhinitis patients*. Med Princ Pract, 2010. **19**(3): p. 206-11.
267. Nikakhlagh, S., et al., *Herbal treatment of allergic rhinitis: the use of Nigella sativa*. Am J Otolaryngol, 2011. **32**(5): p. 402-7.
268. Yousefi, M., et al., *Comparison of therapeutic effect of topical Nigella with Betamethasone and Eucerin in hand eczema*. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2012.
269. Bayir, Y., et al., *Nigella sativa as a potential therapy for the treatment of lung injury caused by cecal ligation and puncture-induced sepsis model in rats*. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2012. **58 Suppl**: p. OL1680-7.
270. Tayman, C., et al., *Protective Effects of Nigella sativa Oil in Hyperoxia-Induced Lung Injury*. Arch Bronconeumol, 2013. **49**(1): p. 15-21.
271. Nemmar, A., et al., *Contrasting actions of diesel exhaust particles on the pulmonary and cardiovascular systems and the effects of thymoquinone*. Br J Pharmacol, 2011. **164**(7): p. 1871-82.
272. Hossein, B.M., V. Nasim, and A. Sediqa, *The protective effect of Nigella sativa on lung injury of sulfur mustard-exposed Guinea pigs*. Exp Lung Res, 2008. **34**(4): p. 183-94.
273. Boskabady, M.H., et al., *The effect of Nigella sativa alone, and in combination with dexamethasone, on tracheal muscle responsiveness and lung inflammation in sulfur mustard exposed guinea pigs*. J Ethnopharmacol, 2011. **137**(2): p. 1028-34.
274. el Tahir, K.E., M.M. Ashour, and M.M. al-Harbi, *The respiratory effects of the volatile oil of the black seed (Nigella sativa) in guinea-pigs: elucidation of the mechanism(s) of action*. Gen Pharmacol, 1993. **24**(5): p. 1115-22.
275. Wienkotter, N., et al., *The effect of nigellone and thymoquinone on inhibiting trachea contraction and mucociliary clearance*. Planta Med, 2008. **74**(2): p. 105-8.
276. Gilani, A.H., et al., *Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of Nigella sativa seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses*. J Pak Med Assoc, 2001. **51**(3): p. 115-20.
277. Boskabady, M.H., A. Khatami, and A. Nazari, *Possible mechanism(s) for relaxant effects of Foeniculum vulgare on guinea pig tracheal chains*. Pharmazie, 2004. **59**(7): p. 561-4.
278. Al-Majed, A.A., et al., *Thymoquinone-induced relaxation of guinea-pig isolated trachea*. Res Commun Mol Pathol Pharmacol, 2001. **110**(5-6): p. 333-45.
279. Boskabady, M.H. and J. Farhadi, *The possible prophylactic effect of Nigella sativa seed aqueous extract on respiratory symptoms and pulmonary function tests on chemical war victims: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. J Altern Complement Med, 2008. **14**(9): p. 1137-44.
280. Boskabady, M.H., et al., *The possible prophylactic effect of Nigella sativa seed extract in asthmatic patients*. Fundam Clin Pharmacol, 2007. **21**(5): p. 559-66.
281. Boskabady, M.H., N. Mohsenpoor, and L. Takaloo, *Antiasthmatic effect of Nigella sativa in airways of asthmatic patients*. Phytomedicine, 2010. **17**(10): p. 707-13.
282. Salem, M.L. and M.S. Hossain, *Protective effect of black seed oil from Nigella sativa against murine cytomegalovirus infection*. Int J Immunopharmacol, 2000. **22**(9): p. 729-40.
283. Barakat, E.M., L.M. El Wakeel, and R.S. Hagag, *Effects of Nigella sativa on outcome of hepatitis C in Egypt*. World J Gastroenterol, 2013. **19**(16): p. 2529-36.
284. Onifade, A.A., A.P. Jewell, and W.A. Adedeji, *Nigella sativa concoction induced sustained seroreversion in HIV patient*. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2013. **10**(5): p. 332-5.

285. Hanafy, M.S. and M.E. Hatem, *Studies on the antimicrobial activity of Nigella sativa seed (black cumin)*. J Ethnopharmacol, 1991. **34**(2-3): p. 275-8.
286. Ferdous, A.J., *In vitro antibacterial activity of the volatile oil of Nigella sativa seeds against multiple drug-resistant isolates of Shigella species and isolates of Vibrio cholerae and Escherichia coli*. Phytother Res, 1992. **6**(2): p. 137-140.
287. Keshri, G., et al., *Post-coital contraceptive efficacy of the seeds of Nigella sativa in rats*. Indian J Physiol Pharmacol, 1995. **39**(1): p. 59-62.
288. Nair, M., *Antibacterial effect of black seed oil on Listeria monocytogenes*. Food Control, 2005. **16**: p. 395-398.
289. Morsi, N.M., *Antimicrobial effect of crude extracts of Nigella sativa on multiple antibiotics-resistant bacteria*. Acta Microbiol Pol, 2000. **49**(1): p. 63-74.
290. Hannan, A., et al., *Anti bacterial activity of Nigella sativa against clinical isolates of methicillin resistant Staphylococcus aureus*. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2008. **20**(3): p. 72-4.
291. Abu-Al-Basal, M.A., *Influence of Nigella sativa fixed oil on some blood parameters and histopathology of skin in staphylococcal-infected BALB/c mice*. Pak J Biol Sci, 2011. **14**(23): p. 1038-46.
292. Alkharfy, K.M., et al., *The protective effect of thymoquinone against sepsis syndrome morbidity and mortality in mice*. Int Immunopharmacol, 2011. **11**(2): p. 250-4.
293. Salem, E.M., et al., *Comparative study of Nigella Sativa and triple therapy in eradication of Helicobacter Pylori in patients with non-ulcer dyspepsia*. Saudi J Gastroenterol, 2010. **16**(3): p. 207-14.
294. Biglar, M., et al., *Screening of 20 commonly used Iranian traditional medicinal plants against urease*. Iran J Pharm Res, 2014. **13**(Suppl): p. 195-8.
295. Khosravi, A.R., H. Shokri, and M. Minooeianhaghghi, *Inhibition of aflatoxin production and growth of Aspergillus parasiticus by Cuminum cyminum, Ziziphora clinopodioides, and Nigella sativa essential oils*. Foodborne Pathog Dis, 2011. **8**(12): p. 1275-80.
296. Abdel-Wahhab, M.A. and S.E. Aly, *Antioxidant property of Nigella sativa (black cumin) and Syzygium aromaticum (clove) in rats during aflatoxicosis*. J Appl Toxicol, 2005. **25**(3): p. 218-23.
297. Al-Ghasham, A., et al., *Study of protective effect of date and nigella sativa on aflatoxin b(1) toxicity*. Int J Health Sci (Qassim), 2008. **2**(2): p. 26-44.
298. Nili-Ahmadabadi, A., et al., *Protective effect of pretreatment with thymoquinone against Aflatoxin B(1) induced liver toxicity in mice*. Daru, 2011. **19**(4): p. 282-7.
299. Khan, M.A., et al., *The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from Nigella sativa seeds*. Phytother Res, 2003. **17**(2): p. 183-6.
300. Shokri, H., A. Sharifzadeh, and I. Ashrafi Tamai, *Anti-Candida zeylanoides activity of some Iranian plants used in traditional medicine*. J Mycol Med, 2012. **22**(3): p. 211-6.
301. Aljabre, S.H., et al., *Antidermatophyte activity of ether extract of Nigella sativa and its active principle, thymoquinone*. J Ethnopharmacol, 2005. **101**(1-3): p. 116-9.
302. Ahmed el, H.M., et al., *Antiplasmodial Activity of Some Medicinal Plants Used in Sudanese Folk-medicine*. Environ Health Insights, 2010. **4**: p. 1-6.
303. Okeola, V.O., et al., *Antimalarial and antioxidant activities of methanolic extract of Nigella sativa seeds (black cumin) in mice infected with Plasmodium yoelli nigeriensis*. Parasitol Res, 2011. **108**(6): p. 1507-12.
304. Mohamed, A.M., N.M. Metwally, and S.S. Mahmoud, *Sativa seeds against Schistosoma mansoni different stages*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2005. **100**(2): p. 205-11.
305. Mansour, S., *Impact of some plant extracts on Biomphalaria alexandrina snails and on Schistosoma mansoni miracidia and cercariae*. Egypt J Schistosomiasis Infect Endem Dis, 2002. **24**: p. 81-94.

306. Mahmoud, M.R., H.S. El-Abhar, and S. Saleh, *The effect of Nigella sativa oil against the liver damage induced by Schistosoma mansoni infection in mice*. J Ethnopharmacol, 2002. **79**(1): p. 1-11.
307. El Shenawy, N.S., M.F. Soliman, and S.I. Reyad, *The effect of antioxidant properties of aqueous garlic extract and Nigella sativa as anti-schistosomiasis agents in mice*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 2008. **50**(1): p. 29-36.
308. Aboul-Ela, E.I., *Cytogenetic studies on Nigella sativa seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping*. Mutat Res, 2002. **516**(1-2): p. 11-7.
309. Badary, O.A., et al., *Anticlastogenic activity of thymoquinone against benzo(a)pyrene in mice*. Food Chem Toxicol, 2007. **45**(1): p. 88-92.
310. Akhtar, M.S. and S. Riffat, *Field trial of Saussurea lappa roots against nematodes and Nigella sativa seeds against cestodes in children*. J Pak Med Assoc, 1991. **41**(8): p. 185-7.
311. Abu El Ezz, N.M., *Effect of Nigella sativa and Allium cepa oils on Trichinella spiralis in experimentally infected rats*. J Egypt Soc Parasitol, 2005. **35**(2): p. 511-23.
312. Ayaz, E., et al., *The effect of Nigella sativa oil against Aspiculuris tetraptera and Hymenolepis nana in naturally infected mice*. Saudi Med J, 2007. **28**(11): p. 1654-7.
313. Shalaby, H.A. and F.M. El-Moghazy, *In vitro effect of Nigella sativa oil on adult Toxocara vitulorum*. Pak J Biol Sci, 2013. **16**(22): p. 1557-62.
314. Musa, D., et al., *Effects of Nigella sativa and albendazole alone and in combination in Toxocara canis infected mice*. J Pak Med Assoc, 2011. **61**(9): p. 866-70.
315. Chaubey, M.K., *Fumigant toxicity of essential oils from some common spices against pulse beetle, Callosobruchus chinensis (Coleoptera: Bruchidae)*. J Oleo Sci, 2008. **57**(3): p. 171-9.
316. OMS. 10 faits sur le diabète 2013; Available from: <http://www.who.int/features/factfiles/diabetes/fr/>.
317. Meral, I., et al., *Effect of Nigella sativa on glucose concentration, lipid peroxidation, antioxidant defence system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits*. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med, 2001. **48**(10): p. 593-9.
318. al-Awadi, F., H. Fatania, and U. Shamte, *The effect of a plants mixture extract on liver gluconeogenesis in streptozotocin induced diabetic rats*. Diabetes Res, 1991. **18**(4): p. 163-8.
319. El-Dakhkhny, M., et al., *The hypoglycemic effect of Nigella sativa oil is mediated by extrapancreatic actions*. Planta Med, 2002. **68**(5): p. 465-6.
320. Kanter, M., et al., *Partial regeneration/proliferation of the beta-cells in the islets of Langerhans by Nigella sativa L. in streptozotocin-induced diabetic rats*. Tohoku J Exp Med, 2003. **201**(4): p. 213-9.
321. Rchid, H., et al., *Nigella sativa seed extracts enhance glucose-induced insulin release from rat-isolated Langerhans islets*. Fundam Clin Pharmacol, 2004. **18**(5): p. 525-9.
322. Benhaddou-Andaloussi, A., et al., *Multiple molecular targets underlie the antidiabetic effect of Nigella sativa seed extract in skeletal muscle, adipocyte and liver cells*. Diabetes Obes Metab, 2010. **12**(2): p. 148-57.
323. Alimohammadi, S., et al., *Protective and antidiabetic effects of extract from Nigella sativa on blood glucose concentrations against streptozotocin (STZ)-induced diabetic in rats: an experimental study with histopathological evaluation*. Diagn Pathol, 2013. **8**(1): p. 137.
324. Bamosa, A.O., et al., *Effect of Nigella sativa seeds on the glycemic control of patients with type 2 diabetes mellitus*. Indian J Physiol Pharmacol, 2010. **54**(4): p. 344-54.
325. Fararh, K.M., et al., *Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of Nigella sativa L. oil in streptozotocin-induced diabetic hamsters*. Res Vet Sci, 2004. **77**(2): p. 123-9.
326. Benhaddou-Andaloussi, A., et al., *The In Vivo Antidiabetic Activity of Nigella sativa Is Mediated through Activation of the AMPK Pathway and Increased Muscle Glut4 Content*. Evid Based Complement Alternat Med, 2011. **2011**: p. 538671.

327. Benhaddou-Andaloussi, A., *Antidiabetic activity of Nigella sativa seed extract in cultured pancreatic β -cells, skeletal muscle cells, and adipocytes*. . Pharm Biol, 2008. **46**(1-2): p. 96-104.
328. Munday, M.R., D. Carling, and D.G. Hardie, *Negative interactions between phosphorylation of acetyl-CoA carboxylase by the cyclic AMP-dependent and AMP-activated protein kinases*. FEBS Lett, 1988. **235**(1-2): p. 144-8.
329. Ojuka, E.O., *Role of calcium and AMP kinase in the regulation of mitochondrial biogenesis and GLUT4 levels in muscle*. Proc Nutr Soc, 2004. **63**(2): p. 275-8.
330. Wilding, J.P.H. *SGLT₂ Inhibitors for the Treatment of Diabetes*. 2009.
331. Le, P.M., et al., *The petroleum ether extract of Nigella sativa exerts lipid-lowering and insulin-sensitizing actions in the rat*. J Ethnopharmacol, 2004. **94**(2-3): p. 251-9.
332. Meddah, B., et al., *Nigella sativa inhibits intestinal glucose absorption and improves glucose tolerance in rats*. J Ethnopharmacol, 2009. **121**(3): p. 419-24.
333. *Dapagliflozine : limiter l'exposition des patients*, in Rev Prescrire. 2014. p. 659.
334. Kanter, M., *Effects of Nigella sativa and its major constituent, thymoquinone on sciatic nerves in experimental diabetic neuropathy*. Neurochem Res, 2008. **33**(1): p. 87-96.
335. Omran, O.M., *Effects of thymoquinone on STZ-induced diabetic nephropathy: an immunohistochemical study*. Ultrastruct Pathol, 2014. **38**(1): p. 26-33.
336. Al-Enazi, M.M., *Effect of thymoquinone on malformations and oxidative stress-induced diabetic mice*. Pak J Biol Sci, 2007. **10**(18): p. 3115-9.
337. Chandra, S., D. Mondal, and K.C. Agrawal, *HIV-1 protease inhibitor induced oxidative stress suppresses glucose stimulated insulin release: protection with thymoquinone*. Exp Biol Med (Maywood), 2009. **234**(4): p. 442-53.
338. Chandra, S., et al., *Therapeutic effects of Nigella sativa on chronic HAART-induced hyperinsulinemia in rats*. Can J Physiol Pharmacol, 2009. **87**(4): p. 300-9.
339. Bamosa, A.O., B.A. Ali, and Z.A. al-Hawsawi, *The effect of thymoquinone on blood lipids in rats*. Indian J Physiol Pharmacol, 2002. **46**(2): p. 195-201.
340. Nader, M.A., D.S. el-Agamy, and G.M. Suddek, *Protective effects of propolis and thymoquinone on development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits*. Arch Pharm Res, 2010. **33**(4): p. 637-43.
341. el-Dakhakhny, M., N.I. Mady, and M.A. Halim, *Nigella sativa L. oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats*. Arzneimittelforschung, 2000. **50**(9): p. 832-6.
342. Dahri, A.H., et al., *Effect of Nigella sativa (kalonji) on serum cholesterol of albino rats*. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2005. **17**(2): p. 72-4.
343. Tousson, E., M. El-Moghazy, and E. El-Attrsh, *The possible effect of diets containing Nigella sativa and Thymus vulgaris on blood parameters and some organs structure in rabbit*. Toxicol Ind Health, 2011. **27**(2): p. 107-16.
344. Zaoui, A., et al., *Effects of Nigella sativa fixed oil on blood homeostasis in rat*. J Ethnopharmacol, 2002. **79**(1): p. 23-6.
345. Zaoui, A., et al., *Acute and chronic toxicity of Nigella sativa fixed oil*. Phytomedicine, 2002. **9**(1): p. 69-74.
346. Bhatti, I., *Effect of Prophetic Medicine Kalonji (Nigella sativa L.) On Lipid Profile of Human Beings: An In Vivo Approach*. World Applied Sciences Journal, 2009. **6**(8): p. 1053-1057.
347. Bamosa, A.O., *Effect of oral ingestion of Nigella sativa seeds in some blood parameters*. Saudi Pharm J., 1997. **5**(126): p. 9.
348. Kaatabi, H., et al., *Favorable impact of Nigella sativa seeds on lipid profile in type 2 diabetic patients*. J Family Community Med, 2012. **19**(3): p. 155-61.
349. Bamosa, A.O., *Effect of oral ingestion of Nigella sativa seeds on some blood parameters*. Saudi Pharm J., 1997. **5**(2-3): p. 126-129.

350. Najmi, A., et al., *Effect of Nigella sativa oil on various clinical and biochemical parameters of insulin resistance syndrome*. Int J Diabetes Dev Ctries, 2008. **28**(1): p. 11-4.
351. Tasawar, Z., *The Effects of Nigella sativa (Kalonji) on Lipid Profile in Patients with Stable Coronary Artery Disease in Multan, Pakistan*. Pak J Nut, 2011. **10**(2): p. 162-167.
352. Dehkordi, F.R. and A.F. Kamkhah, *Antihypertensive effect of Nigella sativa seed extract in patients with mild hypertension*. Fundam Clin Pharmacol, 2008. **22**(4): p. 447-52.
353. Ibrahim, R.M., et al., *A randomised controlled trial on hypolipidemic effects of Nigella Sativa seeds powder in menopausal women*. J Transl Med, 2014. **12**(1): p. 82.
354. Ibrahim, R.M., et al., *Protective Effects of Nigella sativa on Metabolic Syndrome in Menopausal Women*. Adv Pharm Bull, 2014. **4**(1): p. 29-33.
355. Ahmad Alobaidi, A.H., *Effect of Nigella sativa and Allium sativum coadministered with simvastatin in dyslipidemia patients: a prospective, randomized, double-blind trial*. Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem, 2014. **13**(1): p. 68-74.
356. Morikawa, T., et al., *Novel dolabellane-type diterpene alkaloids with lipid metabolism promoting activities from the seeds of Nigella sativa*. Org Lett, 2004. **6**(6): p. 869-72.
357. Morikawa, T., et al., *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 (Tokyo), 2004. **52**(4): p. 494-7.
358. Haas, M.J., et al., *Induction of apolipoprotein A-I gene expression by black seed (Nigella sativa) extracts*. Pharm Biol, 2014.
359. Al-Naqeep, G., M. Ismail, and Z. Allaudin, *Regulation of low-density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene expression by thymoquinone-rich fraction and thymoquinone in HepG2 cells*. J Nutrigenet Nutrigenomics, 2009. **2**(4-5): p. 163-72.
360. Ahmad, S. and Z.H. Beg, *Elucidation of mechanisms of actions of thymoquinone-enriched methanolic and volatile oil extracts from Nigella sativa against cardiovascular risk parameters in experimental hyperlipidemia*. Lipids Health Dis, 2013. **12**: p. 86.
361. Al-Naqeep, G., et al., *Antiatherogenic Potential of Nigella sativa Seeds and Oil in Diet-Induced Hypercholesterolemia in Rabbits*. Evid Based Complement Alternat Med, 2011. **2011**: p. 213628.
362. Mat, M.C., A.S. Mohamed, and S.S. Hamid, *Primary human monocyte differentiation regulated by Nigella sativa pressed oil*. Lipids Health Dis, 2011. **10**: p. 216.
363. Enomoto, S., et al., *Hematological studies on black cumin oil from the seeds of Nigella sativa L.* Biol Pharm Bull, 2001. **24**(3): p. 307-10.
364. Awad, E.M. and B.R. Binder, *In vitro induction of endothelial cell fibrinolytic alterations by Nigella sativa*. Phytomedicine, 2005. **12**(3): p. 194-202.
365. Ragheb, A., et al., *Attenuation of the development of hypercholesterolemic atherosclerosis by thymoquinone*. Int J Angiol, 2008. **17**(4): p. 186-92.
366. el Tahir, K.E., M.M. Ashour, and M.M. al-Harbi, *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**(5): p. 1123-31.
367. Zaoui, A., et al., *[Diuretic and hypotensive effects of Nigella sativa in the spontaneously hypertensive rat]*. Therapie, 2000. **55**(3): p. 379-82.
368. Demir, H., et al., *Effect of black cumin (Nigella sativa) on heart rate, some hematological values, and pancreatic beta-cell damage in cadmium-treated rats*. Biol Trace Elem Res, 2006. **110**(2): p. 151-62.
369. Qidwai, W., et al., *Effectiveness, safety, and tolerability of powdered Nigella sativa (kalonji) seed in capsules on serum lipid levels, blood sugar, blood pressure, and body weight in adults: results of a randomized, double-blind controlled trial*. J Altern Complement Med, 2009. **15**(6): p. 639-44.

370. Fallah Huseini, H., et al., *Blood Pressure Lowering Effect of Nigella sativa L. Seed Oil in Healthy Volunteers: A Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled Clinical Trial*. *Phytother Res*, 2013.
371. El-Tahir, K., *Effect of volatile oil of Nigella sativa on the arterial blood pressure and heart rate of the guinea-pig*. *Saudi Pharm J.*, 1994. **2**(4): p. 163-168.
372. El-Tahir, K., *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**(3): p. 104-110.
373. Zeggwagh, N., *Cardiovascular effect of Nigella sativa aqueous extract in spontaneously hypertensive rats*, in *Chemistry and Medicinal Value*. 2009, Studium Press: Houston, Tex, USA. p. 243-252.
374. Gilani, A., *Thymol lowers blood pressure through blockade of calcium channels*. *Fundam Clin Pharmacology*, 2001. **15**(8): p. 163.
375. Peixoto-Neves, D., et al., *Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta*. *Fundam Clin Pharmacol*, 2010. **24**(3): p. 341-50.
376. Szentandrassy, N., et al., *Effect of thymol on calcium handling in mammalian ventricular myocardium*. *Life Sci*, 2004. **74**(7): p. 909-21.
377. Magyar, J., et al., *Effects of terpenoid phenol derivatives on calcium current in canine and human ventricular cardiomyocytes*. *Eur J Pharmacol*, 2004. **487**(1-3): p. 29-36.
378. Suddek, G.M., *Thymoquinone-induced relaxation of isolated rat pulmonary artery*. *J Ethnopharmacol*, 2010. **127**(2): p. 210-4.
379. Leong, X.F., M. Rais Mustafa, and K. Jaarin, *Nigella sativa and Its Protective Role in Oxidative Stress and Hypertension*. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013. **2013**: p. 120732.
380. M, A., *Lipid peroxidation and the levels of antioxidant enzymes in hypertension*. *Free Radic Antiox*, 2012. **2**(2): p. 12-18.
381. Rodrigo, R., et al., *Relationship between oxidative stress and essential hypertension*. *Hypertens Res*, 2007. **30**(12): p. 1159-67.
382. HU, N., *Oxidative stress and non-enzymatic antioxidant status in hypertensive patients in Nigeria*. *Afr J Biotech*, 2007. **6**(14): p. 1681-1684.
383. Idris-Khodja, N. and V. Schini-Kerth, *Thymoquinone improves aging-related endothelial dysfunction in the rat mesenteric artery*. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2012. **385**(7): p. 749-58.
384. El-Saleh, S.C., O.A. Al-Sagair, and M.I. Al-Khalaf, *Thymoquinone and Nigella sativa oil protection against methionine-induced hyperhomocysteinemia in rats*. *Int J Cardiol*, 2004. **93**(1): p. 19-23.
385. Ebru, U., et al., *Cardioprotective effects of Nigella sativa oil on cyclosporine A-induced cardiotoxicity in rats*. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2008. **103**(6): p. 574-80.
386. Kanter, M., et al., *Neuroprotective effects of Nigella sativa on experimental spinal cord injury in rats*. *Hum Exp Toxicol*, 2006. **25**(3): p. 127-33.
387. Arafa, N.M., et al., *Evaluation of the Possible Epileptogenic Activity of Ciprofloxacin: The Role of Nigella sativa on Amino Acids Neurotransmitters*. *Neurochem Res*, 2013. **38**(1): p. 174-85.
388. Mousavi, S.H., et al., *Protective effect of Nigella sativa extract and thymoquinone on serum/glucose deprivation-induced PC12 cells death*. *Cell Mol Neurobiol*, 2010. **30**(4): p. 591-8.
389. Hobbenaghi, R., et al., *Neuroprotective effects of Nigella sativa extract on cell death in hippocampal neurons following experimental global cerebral ischemia-reperfusion injury in rats*. *J Neurol Sci*, 2014. **337**(1-2): p. 74-9.
390. Akhtar, M., et al., *Ameliorating effects of two extracts of Nigella sativa in middle cerebral artery occluded rat*. *J Pharm Bioallied Sci*, 2012. **4**(1): p. 70-5.

391. Akhtar, M., et al., *Neuroprotective effects of chloroform and petroleum ether extracts of Nigella sativa seeds in stroke model of rat*. J Pharm Bioallied Sci, 2013. **5**(2): p. 119-25.
392. Ahlatci, A., et al., *Radiation-modifying abilities of Nigella sativa and Thymoquinone on radiation-induced nitrosative stress in the brain tissue*. Phytomedicine, 2014. **21**(5): p. 740-4.
393. Alhebshi, A.H., M. Gotoh, and I. Suzuki, *Thymoquinone protects cultured rat primary neurons against amyloid beta-induced neurotoxicity*. Biochem Biophys Res Commun, 2013. **433**(4): p. 362-7.
394. Ismail, N.H., *Thymoquinone prevents β -amyloid neurotoxicity in primary cultured cerebellar granule neurons*. Cell Mol Neurobiol, 2013. **33**(8): p. 1159-69.
395. Azzubaidi, M.S., et al., *Protective effect of treatment with black cumin oil on spatial cognitive functions of rats that suffered global cerebrovascular hypoperfusion*. Acta Neurobiol Exp (Wars), 2012. **72**(2): p. 154-65.
396. Sahak, M.K., et al., *Nigella sativa Oil Enhances the Spatial Working Memory Performance of Rats on a Radial Arm Maze*. Evid Based Complement Alternat Med, 2013. **2013**: p. 180598.
397. Hosseini, M., et al., *Effects of the hydro-alcoholic extract of Nigella Sativa on scopolamine-induced spatial memory impairment in rats and its possible mechanism*. Chin J Integr Med, 2014.
398. Bin Sayeed, M.S., et al., *The effect of Nigella sativa Linn. seed on memory, attention and cognition in healthy human volunteers*. J Ethnopharmacol, 2013. **148**(3): p. 780-6.
399. Alhebshi, A.H., et al., *Thymoquinone protects cultured hippocampal and human induced pluripotent stem cells-derived neurons against alpha-synuclein-induced synapse damage*. Neurosci Lett, 2013.
400. Sedaghat, R., M. Roghani, and M. Khalili, *Neuroprotective effect of thymoquinone, the nigella sativa bioactive compound, in 6-hydroxydopamine-induced hemi-parkinsonian rat model*. Iran J Pharm Res, 2014. **13**(1): p. 227-34.
401. OMS. *Epilepsie*. 2012; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/fr/>.
402. Ilhan, A., et al., *Antiepileptogenic and antioxidant effects of Nigella sativa oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice*. Neuropharmacology, 2005. **49**(4): p. 456-64.
403. Hosseinzadeh, H. and S. Parvardeh, *Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of Nigella sativa seeds, in mice*. Phytomedicine, 2004. **11**(1): p. 56-64.
404. Hosseinzadeh, H., et al., *Intracerebroventricular administration of thymoquinone, the major constituent of Nigella sativa seeds, suppresses epileptic seizures in rats*. Med Sci Monit, 2005. **11**(4): p. BR106-10.
405. Raza, M., et al., *Potentiation of Valproate-induced Anticonvulsant Response by Nigella sativa Seed Constituents: The Role of GABA Receptors*. Int J Health Sci (Qassim), 2008. **2**(1): p. 15-25.
406. Akhondian, J., A. Parsa, and H. Rakhshande, *The effect of Nigella sativa L. (black cumin seed) on intractable pediatric seizures*. Med Sci Monit, 2007. **13**(12): p. CR555-9.
407. Akhondian, J., et al., *The effect of thymoquinone on intractable pediatric seizures (pilot study)*. Epilepsy Res, 2011. **93**(1): p. 39-43.
408. Perveen, T., et al., *Repeated administration of Nigella sativa decreases 5-HT turnover and produces anxiolytic effects in rats*. Pak J Pharm Sci, 2009. **22**(2): p. 139-44.
409. Gilhotra, N. and D. Dhingra, *Thymoquinone produced antianxiety-like effects in mice through modulation of GABA and NO levels*. Pharmacol Rep, 2011. **63**(3): p. 660-9.
410. El-Naggar, T., et al., *Nigella sativa L. seed extract modulates the neurotransmitter amino acids release in cultured neurons in vitro*. J Biomed Biotechnol, 2010. **2010**: p. 398312.
411. Bin Sayeed, M.S., et al., *Nigella sativa L. seeds modulate mood, anxiety and cognition in healthy adolescent males*. J Ethnopharmacol, 2014. **152**(1): p. 156-62.

412. Abdel-Zaher, A.O., M.S. Abdel-Rahman, and E.L. FM, *Blockade of nitric oxide overproduction and oxidative stress by Nigella sativa oil attenuates morphine-induced tolerance and dependence in mice*. *Neurochem Res*, 2010. **35**(10): p. 1557-65.
413. Abdel-Zaher, A.O., M.S. Abdel-Rahman, and F.M. Elwasei, *Protective effect of Nigella sativa oil against tramadol-induced tolerance and dependence in mice: Role of nitric oxide and oxidative stress*. *Neurotoxicology*, 2011. **32**(6): p. 725-33.
414. Sangi, S., et al., *A new and novel treatment of opioid dependence: Nigella sativa 500 mg*. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 2008. **20**(2): p. 118-24.
415. Bashir, M.U. and H.J. Qureshi, *Analgesic effect of Nigella sativa seeds extract on experimentally induced pain in albino mice*. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2010. **20**(7): p. 464-7.
416. Abdel-Fattah, A.M., K. Matsumoto, and H. Watanabe, *Antinociceptive effects of Nigella sativa oil and its major component, thymoquinone, in mice*. *Eur J Pharmacol*, 2000. **400**(1): p. 89-97.
417. Hajhashemi, V., A. Ghannadi, and H. Jafarabadi, *Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug*. *Phytother Res*, 2004. **18**(3): p. 195-9.
418. Ghannadi, A., V. Hajhashemi, and H. Jafarabadi, *An investigation of the analgesic and anti-inflammatory effects of Nigella sativa seed polyphenols*. *J Med Food*, 2005. **8**(4): p. 488-93.
419. Datau, E.A., et al., *Efficacy of Nigella sativa on serum free testosterone and metabolic disturbances in central obese male*. *Acta Med Indones*, 2010. **42**(3): p. 130-4.
420. Hasani-Ranjbar, S., Z. Jouyandeh, and M. Abdollahi, *A systematic review of anti-obesity medicinal plants - an update*. *J Diabetes Metab Disord*, 2013. **12**(1): p. 28.
421. El-Halawany, A.M., et al., *Screening for estrogenic and antiestrogenic activities of plants growing in Egypt and Thailand*. *Pharmacognosy Res*, 2011. **3**(2): p. 107-13.
422. Aqel, M. and R. Shaheen, *Effects of the volatile oil of Nigella sativa seeds on the uterine smooth muscle of rat and guinea pig*. *J Ethnopharmacol*, 1996. **52**(1): p. 23-6.
423. Hosseinzadeh, H., et al., *Effect of aqueous and ethanolic extracts of Nigella sativa seeds on milk production in rats*. *J Acupunct Meridian Stud*, 2013. **6**(1): p. 18-23.
424. Bayir, Y., et al., *Nigella sativa reduces tissue damage in rat ovaries subjected to torsion and detorsion: oxidative stress, proinflammatory response and histopathological evaluation*. *Gynecol Obstet Invest*, 2012. **74**(1): p. 41-9.
425. Bible. New King James Version; Available from: <http://www.biblegateway.com/passage/?search=Isaiah+28&version=NKJV>.
426. Mansour, S.W., et al., *Sensibility of male rats fertility against olive oil, Nigella sativa oil and pomegranate extract*. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2013. **3**(7): p. 563-8.
427. Mukhallad, A., *Effects of Black Seeds (Nigella Saitoa) on Spermatogenesis ans fertility of Male Albino Rats*. *Res J Med Med Sci*, 2009. **4**(2): p. 386-390.
428. El-Tohamy, M., *The beneficial effect of Nigella sativa, Raphanus sativus and Eruca sativa seed cakes to improve male rabbit fertility, immunity and production*. *J Am Sci*, 2010. **6**(10): p. 1247-1255.
429. Al-Saaidi, J., *Effect of alcoholic extract of Nigella sativa on fertility in male rats*. *Iraqi J Vet Sci*, 2009. **23**(2): p. 123-128.
430. Kolahdooz, M., et al., *Effects of Nigella sativa L. seed oil on abnormal semen quality in infertile men: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial*. *Phytomedicine*, 2014.
431. El-Abhar, H.S., D.M. Abdallah, and S. Saleh, *Gastroprotective activity of Nigella sativa oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats*. *J Ethnopharmacol*, 2003. **84**(2-3): p. 251-8.

432. Abdel-Sater, K.A., *Gastroprotective effects of Nigella Sativa oil on the formation of stress gastritis in hypothyroidal rats*. Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol, 2009. **1**(2): p. 143-149.
433. Kanter, M., et al., *Gastroprotective activity of Nigella sativa L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats*. World J Gastroenterol, 2005. **11**(42): p. 6662-6.
434. Al Mofleh, I.A., et al., *Gastroprotective effect of an aqueous suspension of black cumin Nigella sativa on necrotizing agents-induced gastric injury in experimental animals*. Saudi J Gastroenterol, 2008. **14**(3): p. 128-34.
435. Magdy, M.A., A. Hanan el, and M. Nabila el, *Thymoquinone: Novel gastroprotective mechanisms*. Eur J Pharmacol, 2012. **697**(1-3): p. 126-31.
436. Tayman, C., et al., *Beneficial effects of Nigella sativa oil on intestinal damage in necrotizing enterocolitis*. J Invest Surg, 2012. **25**(5): p. 286-94.
437. Isik, F., et al., *Protective effects of black cumin (Nigella sativa) oil on TNBS-induced experimental colitis in rats*. Dig Dis Sci, 2011. **56**(3): p. 721-30.
438. Juhas, S., et al., *Effects of borneol and thymoquinone on TNBS-induced colitis in mice*. Folia Biol (Praha), 2008. **54**(1): p. 1-7.
439. Mahgoub, A.A., *Thymoquinone protects against experimental colitis in rats*. Toxicol Lett, 2003. **143**(2): p. 133-43.
440. Lei, X., et al., *Thymoquinone prevents and ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice*. Dig Dis Sci, 2012. **57**(9): p. 2296-303.
441. Bai, T., et al., *Thymoquinone alleviates thioacetamide-induced hepatic fibrosis and inflammation by activating LKB1-AMPK signaling pathway in mice*. Int Immunopharmacol, 2014. **19**(2): p. 351-7.
442. Cikman, O., et al., *Radioprotective Effects of Nigella Sativa Oil Against Oxidative Stress in Liver Tissue of Rats Exposed to Total Head Irradiation*. J Invest Surg, 2014.
443. Uz, E., et al., *Nigella sativa oil for prevention of chronic cyclosporine nephrotoxicity: an experimental model*. Am J Nephrol, 2008. **28**(3): p. 517-22.
444. Ali, B.H., *The effect of Nigella sativa oil on gentamicin nephrotoxicity in rats*. Am J Chin Med, 2004. **32**(1): p. 49-55.
445. Yaman, I. and E. Balikci, *Protective effects of nigella sativa against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats*. Exp Toxicol Pathol, 2010. **62**(2): p. 183-90.
446. Saleem, U., et al., *Nephro-protective effect of vitamin C and Nigella sativa oil on gentamicin associated nephrotoxicity in rabbits*. Pak J Pharm Sci, 2012. **25**(4): p. 727-30.
447. Sayed-Ahmed, M.M. and M.N. Nagi, *Thymoquinone supplementation prevents the development of gentamicin-induced acute renal toxicity in rats*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2007. **34**(5-6): p. 399-405.
448. Hadjzadeh, M.A., et al., *Ethanol extract of nigella sativa L seeds on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats*. Urol J, 2007. **4**(2): p. 86-90.
449. Sahbaz, A., F. Ersan, and S. Aydin, *Effect of Nigella sativa oil on postoperative peritoneal adhesion formation*. J Obstet Gynaecol Res, 2014. **40**(2): p. 532-7.
450. Taysi, S., et al., *The radioprotective effect of Nigella sativa on nitrosative stress in lens tissue in radiation-induced cataract in rat*. Cutan Ocul Toxicol, 2014: p. 1-6.
451. El-Najjar, N., et al., *Impact of protein binding on the analytical detectability and anticancer activity of thymoquinone*. J Chem Biol, 2011. **4**(3): p. 97-107.
452. Lupidi, G., et al., *Thymoquinone, a potential therapeutic agent of Nigella sativa, binds to site I of human serum albumin*. Phytomedicine, 2010. **17**(10): p. 714-20.
453. Al-Jenoobi, F.I., et al., *Effect of black seed on dextromethorphan O- and N-demethylation in human liver microsomes and healthy human subjects*. Drug Metab Lett, 2010. **4**(1): p. 51-5.
454. Al-Jenoobi, F.I., et al., *Effects of Nigella sativa and Lepidium sativum on cyclosporine pharmacokinetics*. Biomed Res Int, 2013. **2013**: p. 953520.

455. Abdelwahab, S.I., et al., *Thymoquinone-loaded nanostructured lipid carriers: preparation, gastroprotection, in vitro toxicity, and pharmacokinetic properties after extravascular administration*. *Int J Nanomedicine*, 2013. **8**: p. 2163-72.
456. Vahdati-Mashhadian, N., H. Rakhshandeh, and A. Omid, *An investigation on LD50 and subacute hepatic toxicity of Nigella sativa seed extracts in mice*. *Pharmazie*, 2005. **60**(7): p. 544-7.
457. Khanna, T., *CNS and analgesic studies on Nigella sativa*. *Fitoterapia*, 1993. **5**: p. 407-410.
458. Dollah, M.A., et al., *Toxicity effect of nigella sativa on the liver function of rats*. *Adv Pharm Bull*, 2013. **3**(1): p. 97-102.
459. Badary, O.A., *Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice*. *Drug Dev Research*, 1998. **44**(2-3): p. 56-61.
460. Al-Ali, A., et al., *Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of Nigella sativa, in mice and rats*. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 2008. **20**(2): p. 25-7.
461. Mansour, M.A., et al., *Effects of volatile oil constituents of Nigella sativa on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice: evidence for antioxidant effects of thymoquinone*. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 2001. **110**(3-4): p. 239-51.
462. Zedlitz, S., R. Kaufmann, and W.H. Boehncke, *Allergic contact dermatitis from black cumin (Nigella sativa) oil-containing ointment*. *Contact Dermatitis*, 2002. **46**(3): p. 188.
463. Steinmann, A., et al., *Allergic contact dermatitis from black cumin (Nigella sativa) oil after topical use*. *Contact Dermatitis*, 1997. **36**(5): p. 268-9.
464. Arslan, E., et al., *A case study report of acute renal failure associated with Nigella sativa in a diabetic patient*. *J Integr Med*, 2013. **11**(1): p. 64-6.
465. Bamosa, A.O., *Nigella sativa is a safe herbal product*. *J Integr Med*, 2014. **12**(1): p. 66.
466. Hammond, E. *Food giant Nestlé claims to have invented stomach soothing use of habbat al-barakah (Nigella sativa)*. *Third World Network* 2012; Available from: <http://www.cbd.int/abs/side-events/icnp2/twn-icnp2-no5-Nestle-Nigella.pdf>.
467. Nestlé. *Is Nestlé trying to patent the fennel flower?* ; Available from: <http://www.nestle.com/aboutus/ask-nestle/answers/is-nestle-trying-to-patent-fennel-flower-nigella-sativa>.