



**HAL**  
open science

## Contribution à l'étude de la graine de nigelle ou cumin noir *Nigella sativa* L

Medhi Hebidi

► **To cite this version:**

Medhi Hebidi. Contribution à l'étude de la graine de nigelle ou cumin noir *Nigella sativa* L. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02163603

**HAL Id: dumas-02163603**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02163603>**

Submitted on 24 Jun 2019

**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

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA  
FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE

LE

Mercredi 19 Juin 2019

PAR

Monsieur HEBIDI Medhi

Né le 08 décembre 1991 à Sisteron

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**TITRE :**

**Contribution à l'étude de la graine de nigelle ou cumin noir**

***Nigella sativa L.***

**JURY :**

Président : Baghdikian Béatrice

Membres : Grimaldi Frédérique, Errami Siham



27 Boulevard Jean Moulin – CS 30064 - 13385 MARSEILLE Cedex 05

Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

## **ADMINISTRATION :**

- Doyen :* Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
- Vice-Doyens :* M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
- Chargés de Mission :* Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI
- Conseiller du Doyen :* M. Patrice VANELLE
- Doyens honoraires :* M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
- Professeurs émérites :* M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Jean-Pierre REYNIER, M. Henri PORTUGAL
- Professeurs honoraires :* M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean- Claude SARI
- Chef des Services Administratifs :* Mme Florence GAUREL
- Chef de Cabinet :* Mme Aurélie BELENGUER
- Responsable de la Scolarité :* Mme Nathalie BESNARD

**DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE**

**PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

**PROFESSEURS**

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT

M. Hervé KOVACIC

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE  
INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE

M. Philippe PICCERELLE

**MAITRES DE  
CONFERENCES**

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI

Mme Odile RIMET-GASPARINI

Mme Pascale BARBIER

M. François DEVRED

Mme Manon CARRE

M. Gilles BREUZARD

Mme Alessandra

PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA

Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE,  
PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE

M. Emmanuel CAUTURE

Mme Véronique ANDRIEU

Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

**A.H.U.**

THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

**ENSEIGNANTS CONTRACTUELS**

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

**DEPARTEMENT BIOLOGIE**

**PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe

CHARPIOT

**PROFESSEURS**

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE  
ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-  
GEORGE

Mme Laurence CAMOIN-JAU

Mme Florence SABATIER-  
MALATERRE

Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN

M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE,  
MOLECULAIRE ET CLINIQUE

Mme Dominique JOURDHEUIL-  
RAHMANI

M. Thierry AUGIER

M. Edouard LAMY

Mme Alexandrine

BERTAUD

Mme Claire CERINI

Mme Edwige TELLIER

M. Stéphane POITEVIN

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Aurélie LEROYER

M. Romaric LACROIX

Mme Sylvie COINTE

MICROBIOLOGIE

Mme Michèle LAGET

M. Michel DE MEO

Mme Anne DAVIN-REGLI

Mme Véronique ROUX

M. Fadi BITTAR

Mme Isabelle PAGNIER

Mme Sophie EDOUARD

M. Seydina Mouhamadou DIENE

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE  
MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO

M. Aurélien DUMETRE

Mme Magali CASANOVA

Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

**A.H.U.**

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

M. Maxime LOYENS

**DEPARTEMENT CHIMIE**

**PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

**PROFESSEURS**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Philippe GALLICE
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	Mme Evelyne OLLIVIER

**MAITRES DE  
CONFERENCES**

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC M. Pierre REBOUILLON

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT

Mme Caroline DUCROS

M. Marc MONTANA

Mme Manon ROCHE

CHIMIE ORGANIQUE

M. Armand GELLIS

PHARMACEUTIQUE

M. Christophe CURTI

HYDROLOGIE

Mme Julie BROGGI

M. Nicolas PRIMAS

M. Cédric SPITZ

M. Sébastien REDON

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE,

M. Riad ELIAS

HOMEOPATHIE

Mme Valérie MAHIOU-LEDDET

Mme Sok Siya BUN

Mme Béatrice BAGHDIKIAN

**MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION Mme Anne-Marie PENET-LOREC

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES

M. Cyril PUJOL

RISQUES ET NUISANCES

TECHNOLOGIQUES

DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE

M. Marc LAMBERT

GESTION PHARMACEUTIQUE,

Mme Félicia FERRERA

PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE

PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET

COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A

L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC

**A.H.U**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION M. Mathieu CERINO

**ATER**

CHIMIE ANALYTIQUE

M. Charles DESMARCHELIER

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Mme Fanny MATHIAS

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE  
SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

**PROFESSEURS**

PHARMACIE CLINIQUE

Mme Diane BRAGUER

M. Stéphane HONORÉ

PHARMACODYNAMIE

M. Benjamin GUILLET

TOXICOLOGIE GENERALE

M. Bruno LACARELLE

TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT

Mme Frédérique GRIMALDI

**MAITRES DE  
CONFERENCES**

PHARMACODYNAMIE

M. Guillaume

HACHE Mme Ahlem

BOUHLEL

M. Philippe GARRIGUE

PHYSIOLOGIE

Mme Sylviane LORTET

Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL

TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE

M. Joseph CICCOLINI

Mme Raphaëlle

FANCIULLINO Mme

Florence GATTACECCA

TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE  
CLINIQUE

M. Pierre-Henri VILLARD  
Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU  
Mme Marie-Anne ESTEVE

**A.H.U.**

PHARMACIE CLINIQUE  
PHARMACOCINETIQUE

M. Florian CORREARD  
Mme Nadège NEANT

## CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

## DEDICACES

Je remercie tout d'abord **Dieu** le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné le courage et la patience de finir mes études de santé.

### **A ma Mère,**

Pour ton amour, ton soutien sans limite, l'ensemble de tes sacrifices sans lesquelles je ne serais pas arrivé où j'en suis aujourd'hui. Je te dois tout, reçois ma profonde gratitude.

### **A mon Directeur de thèse, Madame Baghdikian Béatrice,**

Pour vous être investi dans la direction de ce travail,  
Pour m'avoir montré le chemin lors de mes erreurs,  
J'espère que cette thèse est à la hauteur de vos espérances.

### **A mon Président de thèse, Madame Grimaldi Frédérique,**

Pour me faire l'honneur de votre présence et pour votre intérêt pour mon travail,  
Pour votre enseignement pendant temps d'années.

### **A ma Consoeur, Docteur Errami Siham,**

Pour avoir accepté de faire parti de mon jury, et grâce à qui j'ai acquis beaucoup d'expérience en officine.

### **A mes Amis et frère fi lah,**

Kessal Badis qui n'est pas présent mais qui me voit du ciel,  
Hazem Rami qui était là pour aider ma mère à ma place quand j'avais la tête dans les livres,  
El boudati Mohamed qui représente mon grand frère,  
Et tous les autres ( Amine, Anis, Saïd, Yassine, kamel, Karim, Souhayb, Ibrahim, Khalil, Nabil, Samir, Hassen, Hamza, Anouar, Aymen, khaled, Charaf mon coach sportif, Ilyess, karim, khalid...)

## **AVERTISSEMENT**

*« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »*

## SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
1. PRÉSENTATION.....	3
a. Étymologie.....	3
b. Histoire et utilisations traditionnelles de <i>Nigella sativa</i> L.....	4
c. Systématique botanique.....	12
d. Description botanique de <i>Nigella sativa</i> L.....	13
e. Production et commerce international.....	16
f. Culture de <i>Nigella sativa</i> L.....	16
2. COMPOSITION PHYTOCHIMIQUE.....	16
a. Lipides et stérols.....	17
b. Les protéines.....	21
c. Les vitamines et sels minéraux.....	23
d. Composition en métabolites secondaires.....	24
o Composition de l'huile essentielle.....	24
o Saponosides.....	27
o Polyphénols et flavonoïdes.....	28
o Alcaloïdes.....	31
3. ÉTUDES PHARMACOLOGIQUES DE <i>Nigella sativa</i> L.....	32
a. Activités antioxydantes.....	32
• Études <i>in vitro</i> .....	32
• Études <i>in vivo</i> .....	35
b. Activités anti-inflammatoires.....	37
• Études <i>in vitro</i> .....	37
• Études <i>in vivo</i> .....	38
c. Activités immunomodulatrices.....	41
d. Activités anti-infectieuses.....	43
• Activités antibactériennes.....	43
• Activités antifongiques.....	45
• Activités antivirales.....	49

• Activités antiparasitaires.....	50
e. Activités antidiabétiques.....	52
f. Activités cardiovasculaires.....	56
• Action anti-hypertensive directe.....	56
• Action sur l'hyperlipidémie.....	59
g. Activités gastro-intestinales, rénales.....	63
• Activités hépatoprotectrices.....	63
• Activités gastroprotectrices.....	66
• Activités néphroprotectrices.....	68
h. Activités neurologiques.....	72
• Activités antinociceptives.....	72
• Activités neuroprotectrices.....	74
• Activités anticonvulsivantes.....	78
• Activités anxiolytiques.....	82
i. Activités sur les fonctions de reproduction et de fertilité.....	88
• Actions sur la spermatogénèse.....	88
• Activités galactogènes.....	91
• Activités oestrogéniques.....	95
j. Activités antitumorales.....	98
• Activités cytotoxiques <i>in vitro</i> .....	99
• Activités cytotoxiques <i>in vivo</i> .....	103
k. Propriétés anti-angiogéniques.....	108
4. TOXICITÉ DE <i>Nigella sativa L.</i> .....	112
• Effets secondaires et précautions d'emplois.....	112
• Interactions médicamenteuses.....	115
CONCLUSION.....	117
BIBLIOGRAPHIE	

## INTRODUCTION

*Nigella sativa L.* connue sous le nom de nigelle cultivée ou Cumin noir est une plante traditionnellement utilisée depuis des millénaires à des fins médicinales et culinaires tout particulièrement dans les pays arabes et asiatiques. Ce « remède » naturel, considéré comme une panacée de grande notoriété quelque peu oublié, voir *Nigella sativa L.* revient aujourd'hui au goût du jour suite à la prise de conscience des effets secondaires plus ou moins importants des médicaments allopathiques et grâce à l'engouement de la phytothérapie et de l'aromathérapie.

En effet, depuis quelques années, de nombreux travaux et études consacrés à cette plante ont été publiés. Ses travaux ont particulièrement porté sur l'étude de sa composition chimique, et ses multiples propriétés pharmacologiques. Au fil des années, ces centaines d'études ont mis en évidence une grande diversité d'activités thérapeutiques de la graine de nigelle et de ses préparations (huile végétale et huile essentielle) telles que l'activité antitumorale, anti-infectieuse, antidiabétique, dont le composé suscitant le plus d'intérêt est la thymoquinone, confirmant ainsi les utilisations traditionnelles de *N. sativa*.

Je vous invite à travers ce travail, à découvrir ce trésor naturel méconnue en France, suscitant un véritable intérêt dans le monde, en commençant dans une première partie par une présentation générale de *Nigella sativa L.*, puis dans une deuxième partie par sa composition chimique. Nous poursuivrons par l'étude des propriétés pharmacologiques de *Nigella sativa L.* pour avoir un aperçu sur ses potentialités thérapeutiques dans plusieurs pathologies. Néanmoins *Nigella sativa L.* n'est pas dénuée d'une certaine toxicité, ainsi nous aborderons dans une dernière partie les effets indésirables, les précautions d'emplois, les risques d'interactions médicamenteuses.

**Figure 1 : Fleur de *Nigella sativa* L.(1)**



## 1. PRESENTATION

### a) Etymologie

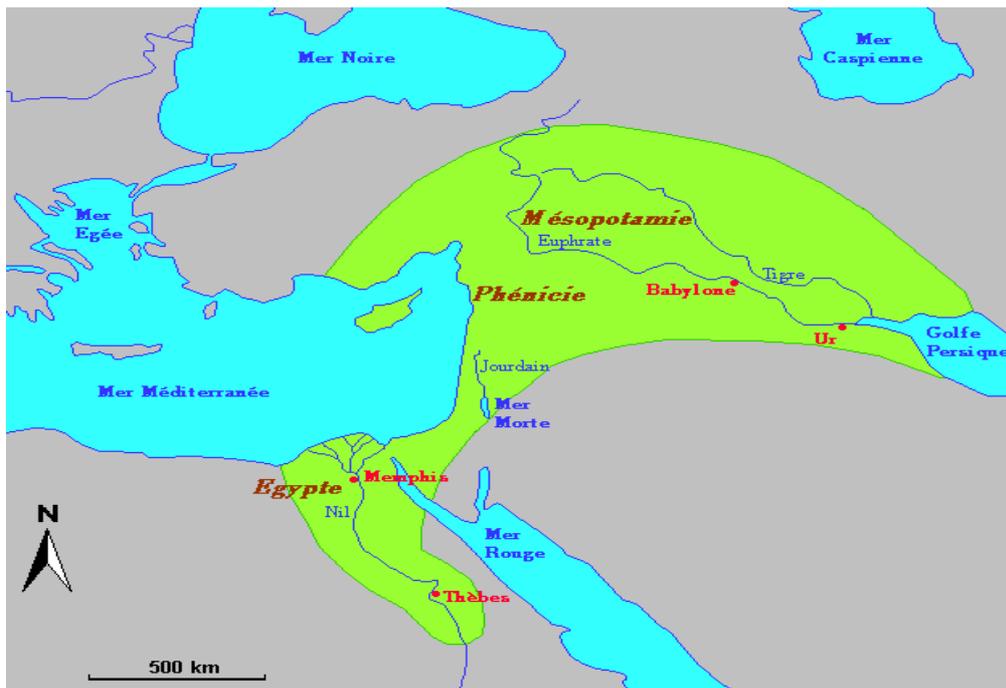
Le nom de genre « nigelle » découle du latin « niger » ou « nigellus » qui signifie noirâtre, se référant à la couleur noire de ses graines (2). Quant au nom d'espèce « sativa », il signifie « semer » ou « cultiver » car *Nigella sativa* est une variété cultivée spécialement pour ses graines comestibles à usage culinaire comme épice ou à des fins comestiques et médicinales.

*Nigella sativa* a également de nombreux noms vernaculaires dans le monde, en voici quelques exemples dans le **tableau** (3) suivant :

PAYS	SYNONYME de <i>N. sativa</i>
France	Cheveux de vénus, Nigelle, Poivrette
Espagne	Niguilla, Pasionara
Allemagne	Zwiebelsame, Schwarzkümmel
Angleterre	Devil in the bush, Love in the mist, Fennel flower, Onion seed
Italie	Nigella, Melanzis
Hongrie	Neidonkuka Feketekömény, Parasztbors, Kerti katicavirág, Borzaskata mag
Pologne	Czarnuszkawna
Inde et Sri Lanka	Kalounji, Munga reala
Finlande	Neidonkuka
Estonie	Mustkõömen
Norvège	Svartkarve
Pays Arabes	Sinouj, Sanouz, Shunez, Habbah sauda, Habbet el beraka, Kamun aswad
Russie	Charnushka
Suède	Svartkummin
Arménie	Svartkummin Shoushma
Turquie	Çörekottu siyah

**b) Histoire et utilisations traditionnelles de *Nigella sativa* L.**

La graine de *Nigella sativa* L. provient du sud de l'Europe, de l'Afrique du Nord et du sud-ouest de l'Asie. Au cours de l'histoire, le cumin noir a été utilisé comme un élément nutritif, préventif et curatif. En effet la phytothérapie, c'est-à-dire l'usage des plantes à des fins thérapeutiques remonte à l'Antiquité comme le prouve la découverte des fossiles du début du Crétacé (-250 millions d'années) témoignant de l'existence de la nigelle à la fin de l'Ère secondaire. En effet, dans la civilisation sumérienne, des tablettes d'argiles découvertes en Mésopotamie datant de plus de 5000 ans, ont été utilisées autrefois comme support dans lesquelles ont été cités la graine de nigelle et prouvant ainsi son utilisation depuis des millénaires(4).



**Le  
croissant  
fertile**

Alain HOUOT

**Figure 1 : Carte de la Mésopotamie et du croissant fertile (5)**



**Figure 2 : Exemple de tablettes d'argile de la civilisation sumérienne (6)**

Par ailleurs, cette plante a également servi à la civilisation de l'Égypte ancienne comme en témoigne le papyrus « livre de préparation de médicaments pour toutes les parties du corps humain » découvert dans les ruines de Louksor, rédigé entre 1500 et 1600 avant J-C, constituant l'un des plus anciens traités de médecine. Des archéologues ont découvert une fiole d'huile de cumin noir dans le tombeau du Pharaon Toutankhamon, dans le but de l'aider dans l'au-delà. Cette huile « miracle » aurait été utilisée par Cléopâtre et Néfertiti comme produit de beauté grâce à ses effets calmants, régénérants, vitalisants, et anti-inflammatoires pour le visage et pour traiter les problèmes de peau (4)(7). Dans le livre des docteurs Schleicher et Saleh, *Guérir au naturel avec le cumin noir d'Égypte*, il est dit que les graines

étaient prises à la suite de repas copieux pour faciliter la digestion, contre les cas de refroidissement, dans le traitement des céphalées et des douleurs dentaires (6).

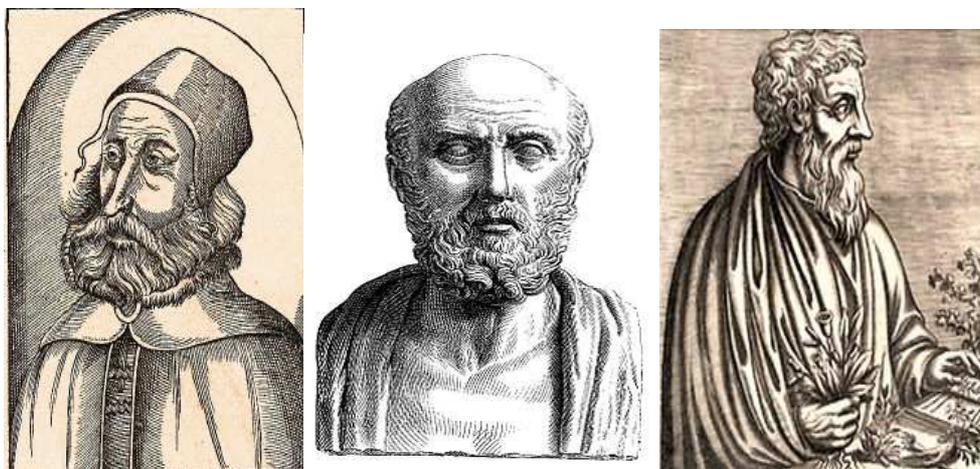


**Figure 3 : Découverte de la tombe de Toutankhamon en 1922 par l'archéologue anglais Carter (8)**

La graine de Nigelle est citée dans le livre d'Isaïe dans l'Ancien Testament où il est écrit que la sagesse du cultivateur sachant planter et battre ses semences (Nigelle, Cumin, Blé, Orge et Millet) selon l'exigence de l'espèce, est à l'image de la sagesse de Dieu dans la conduite de son peuple. Dans la Bible également, elle est citée comme ayant des propriétés curatives ( anti-oxydante, diurétique, galactogène, analgésique, antiallergique...) (8).

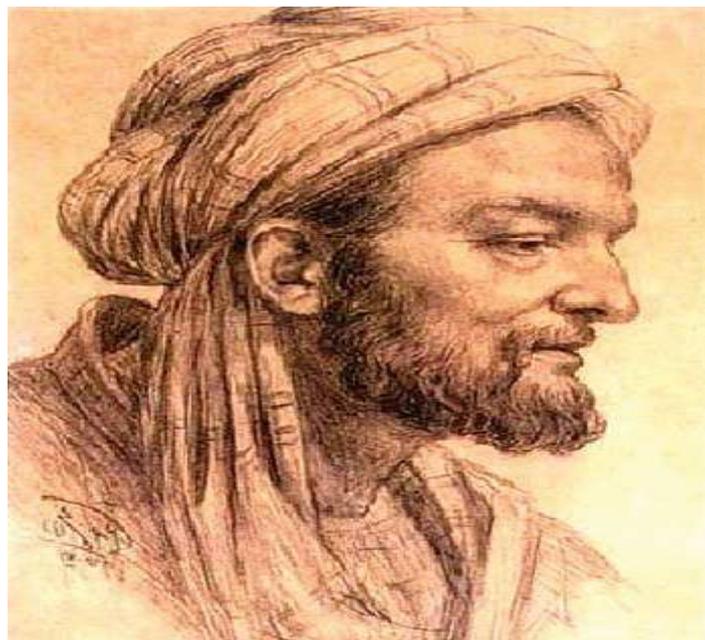
Dans l'ancienne Babylonie, la plante était utilisée au niveau cutané pour traiter les inflammations, les teignes et les ecchymoses, et par voie orale pour traiter les problèmes d'estomac comme l'ulcère gastrique. En effet, dans la civilisation gréco-romaine, des médecins classiques comme Hippocrate et Galien ont décrit l'utilisation du cumin noir pour

traiter diverses maladies, dont les infections hépatiques et digestives tandis que Dioscoride, médecin grec du premier siècle et auteur de *De Materia Medica*, a décrit la plante et ses graines noires avec leur forte odeur, signale leur utilisation en alimentaire et à des fins curatives pour traiter les maux de tête et de dents, pour guérir les maladies oculaires ( conjonctivite, glaucome, allergie oculaire...), cutanées ( mycoses, teignes, psoriasis...) pour éliminer les vers intestinaux, pour accélérer les menstruations, augmenter le flux urinaire et la sécrétion du lait maternel, et repousser les serpents (9). Pline expose les vertus de la graine de nigelle dans son ouvrage *Histoire Naturelle* : « *La nigelle est appelée par les Grecs tantôt mélanthion, tantôt mélanspermon. La meilleure est celle qui a l'odeur la plus pénétrante, et qui est la plus noire. C'est un remède pour les blessures faites par les serpents et les scorpions ; je trouve que dans ce cas, on l'emploie en application avec du vinaigre et du miel, et que brûlée elle met en fuite les serpents. On la prend en boisson à la dose d'une drachme contre les araignées. Elle guérit les fluxions nasales, pilée, mise dans un nouet, et respirée ; les douleurs des yeux, avec de l'huile d'iris ; les maux de dents, cuite avec du vinaigre ; les ulcérations de la bouche, pilée ou mâchée ; les lèpres et lentigo, dans du vinaigre ; la dyspnée, en boisson avec addition de nitre ; les duretés, les vieilles tumeurs et les suppurations, en application. Elle augmente, prise plusieurs jours de suite, la quantité de lait chez les femmes. On en recueille le suc, comme celui de la jusquiame pris à trop forte dose c'est un poison : effet étonnant, car la graine est un assainissement très agréable pour le pain. Cette graine purge les yeux ; elle active le flux de l'urine et des règles ; bien plus- , je trouve que trente grains seulement, mis dans un nouet, font sortir l'arrière-faix. On dit que broyée dans de l'urine elle guérit les cors des pieds, et qu'en fumigation elle tu les moucherons et les mouches.* »(10)



**Figure 4,5,6 : Galien(11), Hippocrate(12), Dioscoride(13)**

Dans la civilisation arabo-musulmane, les dogmes de la médecine arabo-musulmane découlent tout d'abord de leur tradition religieuse puis de l'influence de médecins grecs tels qu'Hippocrate et Galien. En effet, le physicien Assaf réalise des préparations médicinales à base de *Nigella sativa*, par exemple, pour traiter les douleurs à la tête, la poitrine et le corps, pour tuer les parasites intestinaux, pour augmenter la quantité de sperme et augmenter la virilité ; pour guérir la lèpre, les dermatoses, les infections nasales, et pour enrichir la croissance des cheveux. Elle a également servi de matières premières dans un médicament contre les poisons et les piqûres ou morsures de créatures venimeuses. La médecine musulmane considérait les graines de cumin noir comme un médicament contre le rhume et de nombreuses maladies. En effet, le livre sacré *Sahih al-Bukhari* mentionne le cumin noir comme « un remède contre toutes les maladies sauf la mort » suite à la recommandation du Prophète Mohammed : « Soignez-vous en utilisant la graine de nigelle, c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort ». Ibn Sina surnommé Avicenne (980-1037) en occident né près de Boukhara en Perse (actuel Ouzbékistan) quant à lui, fait référence à la graine noire dans son *Canon of Medicine*, manuel de référence au Moyen-Orient et en Europe, comme la graine qui stimule l'énergie du corps et aide à la récupération de la fatigue et du découragement et également dans son ouvrage *Livre de la guérison de l'âme* où l'huile de cumin noir y est citée comme un remède naturel en raison de son large spectre d'actions (4).



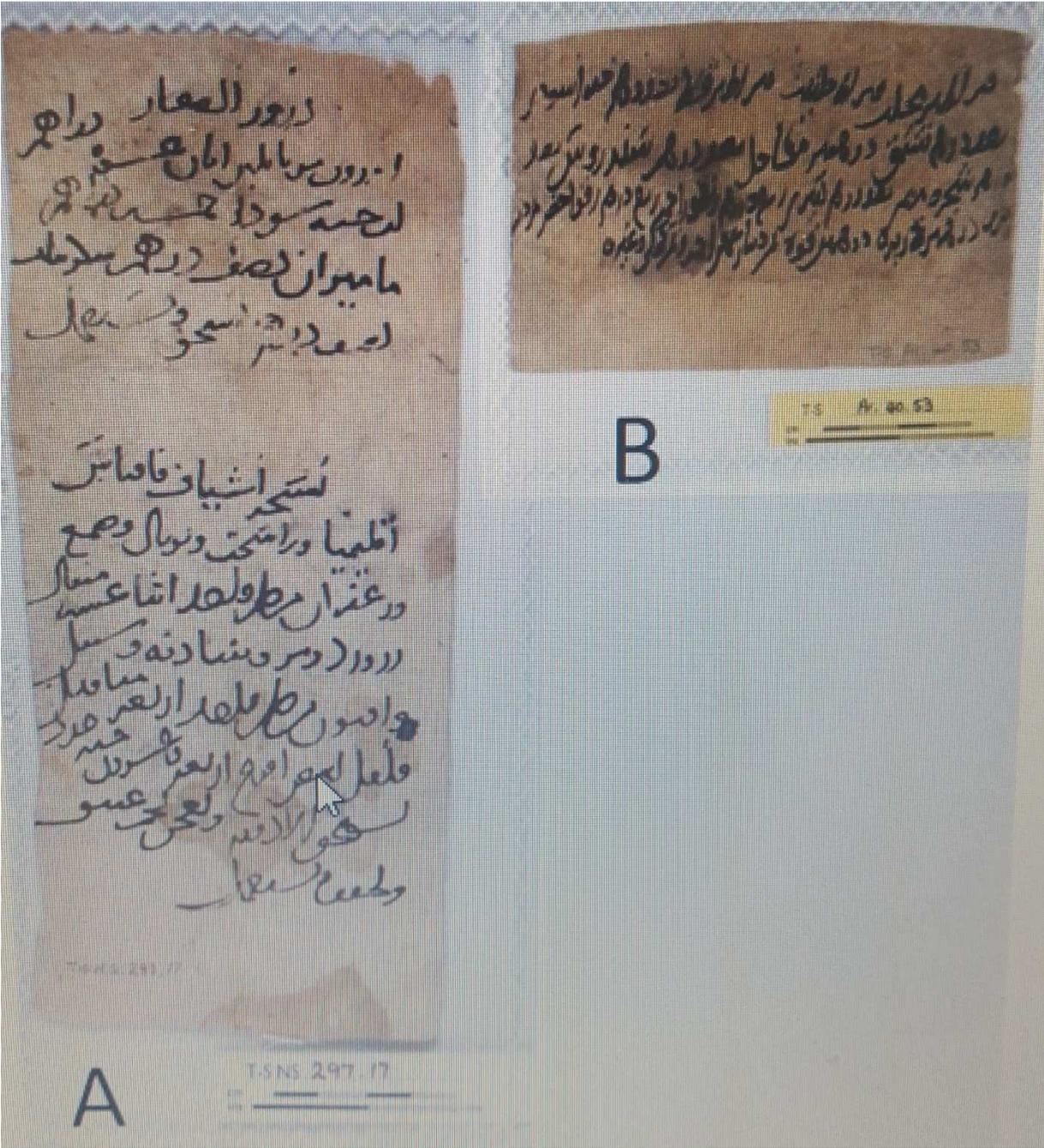
**Figure 7 : Ibn Sina surnommé Avicenne (14)**

Al-Kindi, l'un des plus grands philosophes hellénisants de langue arabe, décrit l'utilisation de ses graines dans une préparation contre les irritations de la peau et dans un médicament contre la folie. Ibn al-Baytar, médecin botaniste arabe, cite al-Tamimi, médecin, physicien, qui relate l'utilisation de l'huile de cumin noir contre la paralysie et les spasmes dans son ouvrage « The Comprehensive Book of Simple Drugs ». Al-Qazwini, homme de lettre arabe, cite divers médecins qui décrivent l'utilisation de la plante pour éliminer les puces et les moustiques, pour enlever les taches de rousseur du visage, pour lisser les cheveux, pour expulser les insectes rampants, pour enlever les grains de beauté de la peau, et pour traiter le vitiligo, la lèpre, les rhumes et les maux de dents dans son livre « *The Wonders of Creation* »(9). Au Maroc, la nigelle cultivée utilisée médecine traditionnelle, serait carminative, emménagogue, antihelminthique, fortifiante, antirhumatismale, antimigraineuse. Par voie locale, elle est employée dans le traitement des verrues, des cors, du vitiligo, des dartres et de la paralysie faciale. En Egypte, l'huile de graines aurait une action protectrice contre les bronchospasmes. Elle serait antitussive et antiasthmatique. En Turquie, l'huile de graine est employée par voie orale pour ses vertus carminatives, bronchodilatatrices, expectorantes, anti hypertensives, diurétiques, diaphorétiques, stomachiques et pour lutter contre les indigestions ; en friction, elle est préconisée contre les spasmes musculaires, la sciatique et les rhumatismes (9). Les graines de cumin noir sont aussi couramment utilisées comme épice et ajoutées aux pâtisseries, produits laitiers et salades.



**Figure 8 : Pain aux graines de nigelle (15)**

Deux ordonnances écrites en arabe ont été trouvées dans la Genizah du Caire la première ordonnance est pour la préparation d'une poudre pour les yeux utilisant de la myrrhe, de l'opium, du safran et divers minéraux; la deuxième prescription médicale, probablement pour le traitement des hémorroïdes mentionne les graines de cumin noir (figure 2) (7)

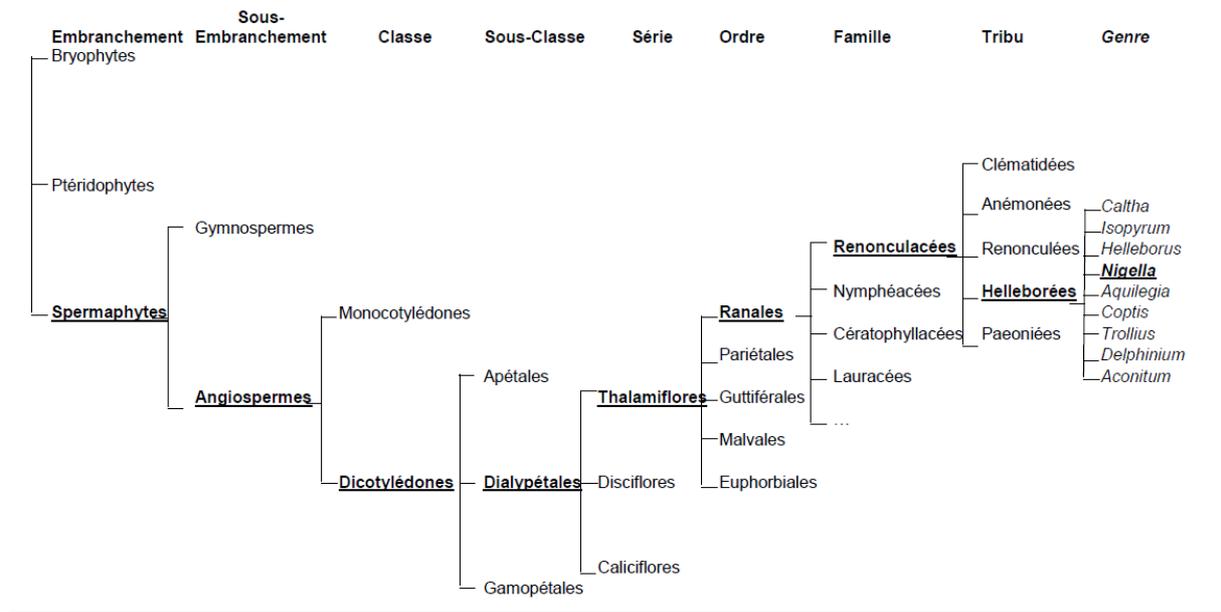


**Figure 9 : Ordonnances découvertes à Genizah (9)**

**Activités de *Nigella sativa L.* dans la médecine traditionnelle de certains pays (3)**

<b>Pays</b>	<b>Activités</b>	<b>Extractions</b>	<b>Voie d'administration</b>	<b>Référence</b>
Inde	Abortive	Infusion	Orale	Malhi et Trivedi, 1972
	Diaphorétique	Infusion	Orale	El Zawahry, 1964
	Emménagogue	Infusion	Orale	El Zawahry, 1964
	Galactagogue	Infusion	Orale	Burkil, 1966
	Vermifuge	Infusion	Orale	Burkil, 1966
	Diurétique	Infusion	Orale	Burkil, 1966
	Antimites	Non cité	Externe	Salama, 1973
Jordanie	Vermifuge	Décoction	Orale	Al-Khalil, 1995
	Stomachique	Décoction	Orale	Al-Khalil, 1995
	Carminative	Décoction	Orale	Al-Khalil, 1995
	Dépurative	Décoction	Orale	Al-Khalil, 1995
	Sudorifique	Décoction	Orale	Al-Khalil, 1995
	Emménagogue	Décoction	Orale	Al-Khalil, 1995
	Antiasthmatique	Décoction	Orale	Al-Khalil, 1995
Antidiabétique	Graines	Orale	AL-Hader et Aqel, 1993	
Malaisie	Aménorrhée	Infusion	Orale	Burkil, 1966
Maroc	Antiasthmatique	Graines	Orale	Bellakhdar et coll., 1991
	Antidote de poison	Graines	Orale	Bellakhdar et coll., 1991
	Toxique	Graines	Orale	Bellakhdar et coll., 1991
	Abortive	Graines	Orale	Bellakhdar et coll., 1991
	Antigrippe	Graines	Orale	Bellakhdar et coll., 1991
Népal	Emménagogue	Infusion	Orale	Suwal, 1970
	Galactagogue	Infusion	Orale	Bhattaray, 1992
Oman	Anti-paralysie	Graines	Externe	Ghazanfar et Al-Sabahi, 1993
	Anti-congestion	Infusion	Orale	Ghazanfar et Al-Sabahi, 1993
	Antiasthmatique	Infusion	Orale	Ghazanfar et Al-Sabahi, 1993
Turquie	Douleurs	Graines	Orale	Yesilada et coll., 1995
Yémen	Antiémétique	Non cité	Orale	Fleurentin et Pelt, 1982
Ethiopie	Anti-inflammatoire	Non cité	Orale	Deschamps et coll., 1983
Iran	Aménorrhée	Graines	Orale	Zagari, 1993
	Antihelminthique	Graines	Orale	Zagari, 1993
Arabie saoudite	Digestive	Infusion	Orale	Al-Yahya, 1986
	Appétissante	Infusion	Orale	Al-Yahya, 1986
	Antipyrétique	Infusion	Orale	Al-Yahya, 1986
	Anti-diarrhée	Infusion	Orale	Al-Yahya, 1986
	Antihelminthique	Infusion	Orale	Al-Yahya, 1986

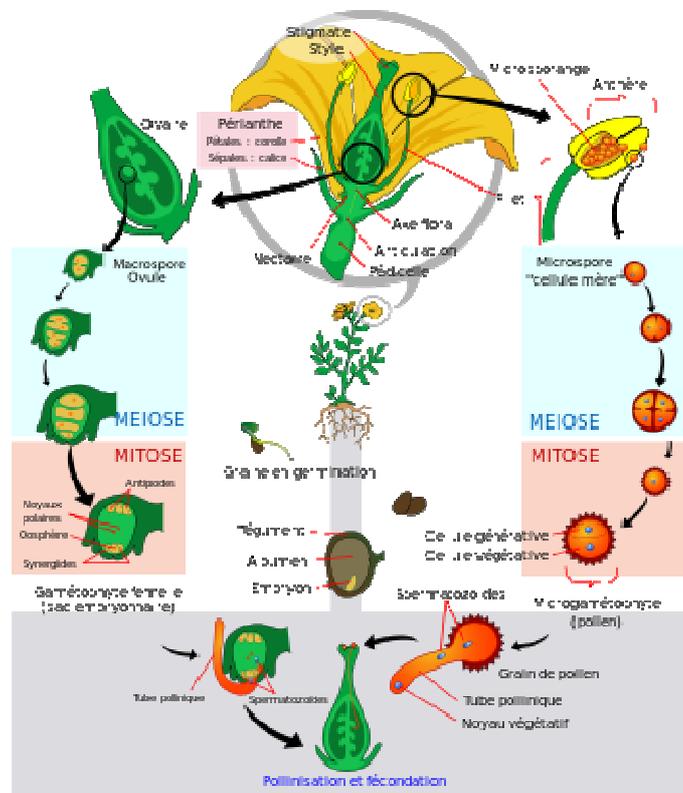
### c) Systématique botanique



**Figure 10 : Classification botanique selon Bentham et Hooker (8)**

La systématique botanique de *Nigella sativa* L est mise en évidence grâce à la classification botanique selon Bentham et Hooker basée sur des critères morphologiques, anatomiques, et chimiques. En effet, cette classification est la plus importante du 19<sup>ème</sup> siècle et la plus utilisée bien qu'elle ne tienne pas encore suffisamment compte de l'évolution. Ainsi, on peut déduire de la Figure 10 que *Nigella sativa* L fait partie de l'embranchement des Spermaphytes, ce qui signifie que c'est une plante qui produit des graines appelées plantes à graines. Parmi les Spermaphytes, une grande majorité sont des Angiospermes représentant la plus grande partie des espèces végétales terrestres. Effectivement, les Angiospermes sont des plantes à fleurs dont la particularité est la condensation des organes reproducteurs en une fleur et la présence d'un ovaire enveloppant les ovules, et qui se développera pour donner un fruit (Figure 11). Ensuite, nous pouvons voir que la nigelle fait partie de la classe des dicotylédones ce qui signifie qu'elle présente deux feuilles primordiales constitutives de la graine contrairement aux monocotylédones. La fleur de *Nigella sativa* L. est une fleur dialypétale ce qui signifie que ses pétales ne sont pas soudés même à la base (pétales indépendantes). Par ailleurs, elle appartient à la série des Thalamiflores caractérisées par un réceptacle

floral convexe ou plan, sans disque glandulaire. Les renonculacées regroupent les ranales dont les fleurs polycarpiques sont des plantes herbacées ou arbustives sans cellules sécrétrices. La tribu des Helléborées, regroupe les Renonculacées ayant pour caractéristique des carpelles capsulaires, polyspermes, déhiscent ; estivation du calice et de la corolle imbricatrice ; pétales tantôt nuls tantôt irréguliers, bilabiés ou nectarifères. Enfin, la particularité de la Nigelle est un calice très grand pétaloïdes à 5 pétales plus courts que le calice, de 5 à 8, labiés ; carpelle de 5 à 10, déhiscent, oblongs, pointus, terminés par une arête (16).



**Figure 11: Cycle de vie des Angiospermes (17)**

**d) Description botanique de *Nigella sativa L.* (2) (18)**

La nigelle est une plante herbacée annuelle érigée, atteignant 60 cm de hauteur, avec une végétation bien développée. C'est une plante hermaphrodite. Elle est constituée d'une tige, de feuilles, de fleurs, d'un fruit, et de graines :

- La tige est dressée, abondamment ramifiée, devenant creuse avec l'âge, de couleur vert clair à vert foncé.
- Les feuilles sont plumeuses et normalement d'une couleur verte, mais deviennent brun ou rouge avec l'âge. Elles sont finement divisées en petites lanières. Les feuilles inférieures sont courtes et pétaloïdes et les feuilles supérieures sont longues.
- La floraison débute au mois d'avril et s'étend jusqu'au mois d'août. Les fleurs de la *Nigella sativa* ont la particularité d'être composées de cinq pétales de couleur blanche ou bleue. Leur diamètre varie de 20 à 35 mm. Elles sont solitaires terminales. Les fleurs sont vert pâle quand elles sont jeunes, bleu clair à maturité.
- Le fruit a la forme d'une capsule globuleuse formée de 3 à 6 carpelles, soudés entre eux jusqu'à la base. Chaque capsule contient plusieurs graines triangulaires blanchâtres qui noircissent à maturité, après exposition à l'air.
- Les graines de la *Nigella sativa* sont ovoïdes et mesurent de 2 à 3,5 mm. Elles présentent 3 à 4 angles avec une face supérieure finement granuleuse et réticulée. Les graines, friables sont oléagineuses au goût épicé et l'huile qu'elles contiennent est grasse dont 60% environ sont des acides gras insaturés et 30 % environ d'acide gras saturés. Elles sont petites, dénoyautées, et présentent un fond blanc huileux. En l'écrasant, elle libère une odeur de camphre.



**Figure 12 : Graine de Nigelle (19)**



**Figure 13 : Fruit de *Nigella sativa* L(19)**



**Figure 14 : Fleur de *Nigella sativa* (20)**

### **e) Production et commerce international (21)**

*Nigella sativa L* est originaire de la région méditerranéenne en traversant l'Asie occidentale jusqu'au nord de l'Inde, où elle est cultivée. C'est une plante sauvage originaire de l'Inde et a été utilisée comme condiment pendant des siècles par de multiples civilisations. En effet, l'Inde est le plus grand producteur et exportateur de graines de Nigelle.

Par ailleurs, le Bangladesh, le Népal, le Sri Lanka, l'Iraq, le Pakistan, la Turquie, et l'Arabie saoudite sont également des pays producteurs de cette plante.

### **f) Culture de *Nigella sativa L.***

Il est cité dans le mémoire de BELABID Hafsa « *Contribution à l'étude physicochimique de l'huile de *Nigella sativa* et son pouvoir anti microbien* » : « Les semis doivent se faire sur place car la nigelle n'aime pas être déplacée. Il faut semer en lignes espacées de 30 cm, en plein soleil, dans un sol riche et bien drainé. La germination se fait en 10 à 15 jours. La nigelle fleurit en Juin-Juillet. Les graines peuvent être récoltées en Août. En laissant monter en graines quelques fleurs, de nouveaux plants apparaissent pendant des années. Il faut néanmoins veiller à supprimer les fleurs fanées au fur et à mesure pour prolonger l'épanouissement. »

## **2. COMPOSITION PHYTOCHIMIQUE**

Le premier article sur la composition des graines de *N. sativa* fut publié en 1880 par Greenish qui mentionna la présence de 37% d'huile et 4,5% d'éléments minéraux (22). Ces différentes études phytochimiques de *Nigella sativa L.* ont permis de mettre en évidence une grande variété de composés regroupant des lipides, des protéines, des vitamines, des sels minéraux, et des métabolites spécialisés : des dérivés terpéniques, des saponosides, des flavonoïdes, et des alcaloïdes. En fonction des lieux de récoltes, de la période de récolte, des conditions climatiques, des procédés de cultures, de stockage et d'autres facteurs, la composition de la graine peut varier d'une étude à l'autre. En effet, les proportions de ces composés varient d'un

auteur à l'autre mais restent dans un même ordre de grandeur. La composition générale de *N.sativa* est donnée dans le tableau suivant (8) (23) (24):

Constituants	Quantités (%)
Lipides	38,20
Glucides	33,5
Protéines	20,9
Fibres	7,94
Sels minéraux	3,7-7

#### a) Lipides et stérols (25)

- Lipides : Une étude réalisée en 2012, porte sur la composition chimique et les caractéristiques physicochimiques des huiles fixes de graines de *Nigella sativa* algériennes. Le but de cette étude était d'étendre nos connaissances sur les huiles de graines de *Nigella sativa* cultivées dans le Sahara algérien [Adrar (A), Timimoun (T) et Ouargla (O)] et en Algérie du Nord [Medea (M)] extraits par des solvants organiques. Des expériences agronomiques de rendement en graines de *Nigella sativa* ont été réalisées pour la première fois dans le Sahara algérien et les régions du Nord. Pour étudier l'huile fixe de *Nigella sativa*, l'extraction au Soxhlet a été utilisée avec de l'hexane (h) et de l'isopropanol (ia) comme solvant. L'isopropanol est une des alternatives les plus favorables par rapport à l'hexane pour l'extraction de l'huile. En effet, comparé à l'hexane et d'autres solvants tels que l'éthanol, l'isopropanol est moins inflammable, moins toxique, et est exempt de réglementations gouvernementales restrictives. Il permet donc une approche écologique et «verte» de l'extraction en éliminant l'utilisation des solvants organiques. Les proportions d'acides gras, de stérols et de polyphénols des huiles fixes de graines de *Nigella sativa* provenant de quatre sites en Algérie ont été déterminés. Les graines contenaient 30,63-34,27% et 25,66-32,77% d'huiles fixes en utilisant comme solvant d'extraction respectivement l'hexane (h) et l'alcool isopropylique (ia).

**Tableau A : Origine et rendements des huiles fixes issues des graines algériennes de *Nigella sativa*, en % du poids des graines**

Solvant	Ouargla	Timimoun	Adrar	Médéa
Hexane	33.61 ± 0.75	32.15 ± 0.65	30.63 ± 0.58	34.27 ± 0.90
Isopropanol	28.05 ± 0.61	25.66 ± 0.55	32.77 ± 0.72	29.38 ± 0,69

La composition moyenne des acides gras de *Nigella sativa* indiquée dans le tableau B avec un total de 11 esters méthyliques différents ont été identifiés par GC et GC-MS dans les huiles de graines de *Nigella sativa*. Les principaux acides gras saturés étaient les acides palmitique (C16: 0), stéarique (C18: 0) et hénéicosanoïque (C21: 0); toutefois les acides linoléique (C18: 2n-6) et oléique (C18: 1n-9) représentent globalement les principaux acides gras insaturés, ce qui explique les teneurs de 78,94% à 87,42% dans les huiles **ia** et de 74,09% à 81,95% dans les huiles **h** (tableau b). D'autres acides gras insaturés mineurs ont été identifiés. La source de la variabilité qualitative et quantitative des rendements peut être due à la génétique (variété cultivée), la qualité des semences (diversité maturité des semences et conditions agricoles de la zone cultivée), la méthode d'extraction ou technique d'analyse.

**Tableau B: Pourcentage d'acides gras (g / 100 g d'acides gras totaux) identifiés par GC  
et GC-MS dans les huiles fixes algériennes**

Acides gras	O(h)	O(ia)	T(h)	T(ia)	A(h)	A(ia)	M(h)	M(ia)
13:0	0.17 ±0.02	Tr.	0.14±0.02	Tr.	0.16±0.03	Tr.	0.24±0.04	0.14±0.01
15:0	Tr.	Nd.	Tr.	Nd.	Tr.	Nd.	Tr.	0.09±0.01
16:0	11.17±0.60	9.20±0.45	11.72±0.8	10.37±0.9	11.75±0.7	11.72±0.5	13.60±0.8	14.18±1.1
16:1	0.19±0.03	Nd.	0	2	5	5	1	0
18:0	2.22 ±0.5	1.16±0.04	0.16± 0.02	Nd.	Tr.	0.23±0.03	0.26±0.03	0.47±0.05
18:1n9	22.94±1.11	20.12±1.24	2.45±0.44	1.34±0.14	2.81±0.56	2.31±0.25	2.72±0.22	1.09±0.08
18:2n6	55.70±2.01	67.30±1.98	20.67±1.4	18.85±1.5	21.73±1.3	20.88±1.7	19.62±1.0	21.96±1.8
18:3n6	0.23±0.04	Tr.	5	7	8	5	1	0
18:3n3	Tr.	Tr.	61.28±1.8	66.05±1.5	56.73±1.0	59.78±1.4	54.47±1.6	56.98±0.9
21:0	2.13±0.15	Tr.	8	9	9	7	6	7
20:2	5.15± 0.57	2.23±0.35	0.19±0.04	Nd.	0.30±0.03	Tr.	0.13±0.02	0.29±0.03
TSFA	15.69	10.36	Tr.	Nd.	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.
TUFA	84.21	89.69	0.38±0.04	Nd.	1.48±0.21	1.46±0,11	Tr.	Tr.
U/S	5.36	8.66	2.89±0.33	2.81±0.20	4.35±0.31	2.94±0.41	8.94±0.82	4.23±0.43
			14.69	11.71	16.20	15.49	16.56	15.50
			85.19	87.71	83.11	83.83	83.42	83.93
			5.80	7.50	5.13	5.41	5.04	5.41

**Légende tableau B :**

Tr : traces, moins de 0,01%

Nd : Non détecté

TSFA : acides gras saturés totaux

TUFA : acides gras insaturés totaux

U/S : rapport des acides gras insaturés aux acides gras saturés

- **Stérols :** Cette étude est la première sur la composition et la teneur en stérols des espèces de *Nigella sativa* cultivée en Algérie. Dans l'ensemble, la composition moyenne en stérols des régions étudiées (tableau C) était proche les unes des autres et est constituée principalement par du  $\beta$ -sitostérol (H: 44,41-53,16%, IA: 47,31-56,70%), du stigmastérol (H: 16,18-21,48%, IA: 15,21-20,88%), du campestérol (H: 12,51-15,65%, IA: 12,17-14,93%) et le A5-avénastérol (H: 11,26-15,71%; IA: 10,28-13,98%). Les informations sur les stérols de la Nigelle sont importantes pour la

caractérisation des espèces de graines et des phytostérols dans l'alimentation humaine. La présence de  $\beta$ -sitostérol dans les huiles de *Nigella sativa* en concentrations moyennes en fait un excellent agent d'absorption du cholestérol alimentaire et constitue un facteur important lors de l'évaluation de la qualité de l'huile car ce composé est d'une importance capitale pour ses bienfaits sur la santé. Le rapport  $\beta$ -sitostérol / campestérol (IIPA) varie de 2,84 (T) à 4,22 (O). En fait, la composition de T est différente par rapport aux autres échantillons. Le principal facteur responsable de cette valeur peut être attribué aux conditions de cultures agricoles (degrés de salinité de l'irrigation de l'eau et nature du sol). Il est important de noter que les stérols végétaux, y compris le  $\beta$ -sitostérol, pourraient entraîner une baisse du taux de cholestérol plasmatique. Les résultats suggèrent que la teneur en phytostérols coïncide avec les variations de TUFAs (acides gras insaturés totaux) et TSFAs (acides gras saturés totaux). À l'échelle mondiale, la teneur totale en phytostérols diminue avec l'augmentation du TSFA et inversement augmente considérablement avec l'augmentation de la TUFAs. La quantité élevée de phytostérols dans les huiles fixes pourrait être responsable du pourcentage important de TUFAs et de la teneur plus faible en TSFA. Ces résultats viennent à l'appui des études publiées au cours de ces dernières années indiquant que les sources alimentaires riches en acides gras saturés possèdent une teneur en phytostérol beaucoup plus faible que la plupart des huiles végétales riches en acides gras insaturés. Huit phytostérols ont été isolés et identifiés dans les huiles fixes par GC et analyse GC / MS, où le  $\beta$ -sitostérol était le composé dominant. Ce stérol inhibe l'absorption du cholestérol alimentaire grâce à sa structure chimique proche de ce dernier, lui permettant de rentrer en compétition avec lui, limitant son passage de l'intestin vers le sang, suivi par le stigmastérol, le campestérol et l'A5-avénastérol(26).

**Tableau C : Pourcentage des principaux stérols identifiés par GC et GC-MS dans l'huile fixe algérienne**

Stérols	O(h)	O(ia)	T(h)	T(ia)	A(h)	A(ia)	M(h)	M(ia)
Cholestérol	1.01±0.10	1.45±0.15	1.08±0.08	1.41±0.15	1.68±0.12	1.94±0.21	1.44±0.13	1.96±0.22
Campestérol*	12.51±1.12	12.17±1.10	15.65±1.35	14.93±1.23	13.62±1.47	12.98±1.73	13.00±1.05	12.28±1.41
Desmostérol*	1.01±0.09	0.98±0.10	Nd.	Nd.	0.48±0.37	0.49±0.42	1.61±0.11	0.55±0.07
Stigmastérol*	18.22±1.87	17.73±1.76	21.48±2.22	20.88±1.97	18.79±1.56	15.21±1.21	16.18±1.48	18.28±1.50
γ-Sitostérol*	0.59±0.05	0.57±0.04	Nd.	Nd.	1.09±0.05	1.12±0.08	1.55±0.09	1.06±0.05
β-Sitostérol*	53.00±2.51	54.87±3.10	44.41±1.97	47.31±2.21	52.12±2.09	56.70±2.41	53.16±1.88	53.62±2.25
Δ5-Avéna-stérol*	12.22±1.10	10.92±1.50	15.71±1.33	13.98±1.12	11.57±0.97	10.87±0.85	11.26±1.12	10.28±0.88
3β-Hydroxycholest- Δ5-en-24-one (24-oxocholestérol)	0.54±0.03	0.53±0.04	0.81±0.06	0.73±0.05	Tr.	Nd.	0.57 ±0.04	0.65±0.07
Δ7-Cholestérol	0.81±0.07	0.79±0.07	0.86 ±0.09	0.76± 0.09	0.65±0.04	0.67±0.07	1.23±0.05	1.31±0.07
IIPA	4.22	4.83	2.84	3.17	2.84	4.37	4.10	4.36
TS, mg/g huile	0.983	1.066	0.812	0.898	0.810	0.907	1.053	1.114
TSO, mg/g huile	0.988	1.067	0.819	0.90	0.812	0.907	1,059	1.122

**Légende Tableau C :**

Tr : Traces de moins de 0,01%

IIPA: indice d'identification de pureté et authentification

Nd : Non détecté

TS: stérols totaux

TSO: stérols totaux et oxystérols.

**b) Les protéines (24)**

Les graines de *Nigella sativa L.* contiennent environ 20% de protéines. Une étude sur la composition chimique des graines de cumin noir saoudienne réalisée en 1992, Mr Saleh Al-Jassir, a permis de mettre en évidence le profil des acides aminés des graines de cumin noir saoudiennes, présenté dans le tableau C, présentant les teneurs de 17 acides aminés. Parmi ces acides aminés, huit acides aminés essentiels ont été trouvés. Les principaux acides aminés dans les graines de cumin noir sont l'acide glutamique suivi de l'arginine, l'acide aspartique, la leucine et la glycine. Ces acides aminés majeurs constituaient plus de 54% des acides aminés

totaux présents dans les protéines des graines de cumin noir. La cystine et la méthionine étaient les acides aminés mineurs dans les graines de cumin noir, alors que le tryptophane était absent.

**Tableau D : Composition en acides aminés des protéines des graines de cumin noir saoudienne**

Acides aminés (AA)	Contenu en protéines (mg/100g de protéines)	% des AA dans les protéines présentes dans <i>N sativa L</i>
<b>Acides aminés essentiels (E)</b>		
Leucine	665±3.51	5.82
Valine	527±3.28	4.61
Lysine	462±4.28	4.04
Thréonine	417±3.31	3.65
Phénylalanine	413±2.67	3.61
Isoleucine	395±2.11	3.46
Histidine	383±1.64	3.35
Méthionine	188±0.37	1.65
<b>Total acides aminés essentiels</b>	<b>3450</b>	<b>30.19</b>
<b>Acides aminés non essentiels (N)</b>		
Acide glutamique	2829±19.34	24.74
Arginine	1051±10.39	9.19
Acide aspartique	1022±9.80	8.94
Glycine	642±4.42	5.61
Proline	560±3.91	4.90
Sérine	493±4.11	4.31
Alanine	427±3.35	3.73
Tryptosine	411±2.95	3.59
Ammonium	325±2.21	2.84
Cystine	224±1.82	1.96
<b>Total acides aminés non essentiels</b>	<b>7984</b>	<b>69.81</b>
<b>Total acides aminés</b>	<b>11434</b>	<b>100</b>
<b>E/N</b>	<b>0.43</b>	

### c) Les vitamines et sels minéraux

- Vitamines (27):

Une étude menée en Turquie en 1992 sur la composition en vitamines des graines de *Nigella sativa L.* relève la présence de vitamine B1 (Thiamine), B2 (Riboflavine), B6 (Pyridoxine), B9 (Acide folique) et PP (Niacine). De plus, des vitamines liposolubles telles que les tocophérols ont pu être identifiées représentant au total 0.05% de l'huile de graine de nigelle, ce sont le  $\gamma$ -tocophérols et la  $\beta$ - tocophérols, composés majoritaires. D'après une autre étude, on a pu mettre en évidence la présence de  $\beta$ -carotène, de vitamine C , de vitamine K1(28). Le tableau E résume la composition en vitamines de *N. sativa L.*, ainsi que sa contribution relative aux apports nutritionnels recommandés. Les résultats montrent que les teneurs en vitamines des graines, en particulier celles en vitamines B1, B6 et niacine, sont élevées.

- Sels minéraux (24) :

Une étude réalisée en Arabie Saoudite par Al-Jassir relève la présence de sels minéraux dans les graines de *Nigella sativa L.*.En effet, le tableau E présente la teneur en minéraux de la graine de cumin noir essentielle dans la nutrition humaine. Le potassium est l'élément prédominant dans les graines suivi par le phosphore, puis le sodium et le fer. Cependant, le zinc, le calcium, le magnésium, le manganèse et le cuivre étaient présents en petites quantités et donc une autre source est nécessaire pour fournir certains de ces éléments.

**Tableau E: Composition en sels minéraux et en vitamines des graines de *Nigella sativa L.***

Elément minéral	Résultats en µg/100g	ANR (%)
Potassium	7600±420	1.09
Phosphore	1800±230	0.25
Sodium	750±100	0.03
Fer	150±40	1.07
Zinc	60±15	0.6
Calcium	40±8	0.005
Magnésium	30±5	0.008
Manganèse	20±3	1
Cuivre	20±2	2

Vitamines	Résultats µg/100g	ANR (%)
B1 (thiamine)	831±11.36	55.3
B2 (riboflavine)	63±3.32	3.5
B6 (pyridoxine)	789±8.89	35.9
PP (niacine)	6311±16.52	33.2
Acide Folique	42±4.58	10.0

#### **d) Composition en métabolites secondaires**

##### **o Composition de l'huile essentielle**

Une étude menée en 2012 (29) a étudié la composition de l'huile essentielle des graines de *Nigella sativa L.* obtenue par extraction au CO<sub>2</sub> supercritique. C'est une technique d'extraction basée sur le pouvoir solvant du CO<sub>2</sub> où celui-ci est placé dans des conditions de température et de pression au-delà de son point critique, lui conférant une bonne aptitude à la diffusion et une densité élevée. La plupart des activités pharmacologiques attribuées à *N. sativa* proviendrait de son huile essentielle. Le CO<sub>2</sub> supercritique est un solvant prometteur pour l'extraction des huiles essentielles, puisque l'extraction peut être effectuée à basse température. En outre, l'extraction par les fluides supercritiques (SFE) offre de nombreuses autres caractéristiques favorables par rapport aux techniques traditionnelles, comme la

distillation à la vapeur et l'extraction par solvant, en raison du fait que l'on utilise des solvants propres, peu coûteux, non inflammables et non toxiques. Des graines de *N. sativa* cultivées d'origine turque ont été obtenues à partir de trois lieux de récolte proches des villes T1 (Antalya), T2 (Aydın), T3 (Denizli). Des graines provenant de *N. Sativa* cultivée d'origine égyptienne E1, ont été fournies par Minardi (Bagnacavallo-Ravenna, Italie). Les teneurs en huile essentielle extraite par SFE à partir des graines de cumin noir, de quatre lieux différents, ont montré des variations de 0,1% à 0,3% (m/m). Toutes les huiles essentielles ont été analysées par GC et GC-MS. Le tableau F présente les composants identifiés, leurs pourcentages, leurs indices de rétention (IR) sur les colonnes HP-5 et DB-WAX. L'analyse des huiles essentielles a permis d'identifier 11 composés qui représentent 93,1 à 97,0% de la composition totale. L'huile essentielle est composée principalement de monoterpènes oxygénés (79,5 à 89,6%) accompagnés de teneurs notables en monoterpènes carbures (5,4 à 11,7%) et de quantités beaucoup plus faibles de carbures sesquiterpéniques (1,9 à 2,6%). Parmi les monoterpènes oxygénés, la thymoquinone était le constituant majeur dans les quatre échantillons (77,2 à 86,2%), accompagnée de plus faibles teneurs en terpinèn-4-ol, méthyl chavicol, acétate de trans-sabynil et carvacrol (voir le tableau F). Les carbures monoterpéniques étaient nettement dominés par l'o-cymène (5,4 à 11,0%), tandis que le  $\alpha$ -thujène, le limonène et le  $\gamma$ -terpinène étaient présents à des quantités beaucoup plus faibles. Les données analytiques ont montré que *Nigella sativa* originaire de Turquie et d'Egypte appartiennent au chémotype de la thymoquinone, avec un taux élevé de thymoquinone (77,2 à 86,2%). Ces résultats renforcent les données antérieures sur la variabilité de la composition des huiles essentielles des graines en fonction de l'origine des échantillons, des conditions environnementales et climatiques. Par ailleurs, plusieurs chémotypes ont été décrits dans la littérature. En effet, une huile essentielle de *Nigella sativa* iranienne était dominée par des composants phénylpropanoïques et présentait un chémotype trans-anéthole ; d'autres *N. sativa* d'Iran, d'Algérie et d'Inde présentent le chémotype le p-cymène thymoquinone. Tandis qu'un chémotype avec 33,0% de p-cymène et 26,8% de thymol et une prépondérance de monoterpènes ont été rapportés pour l'huile essentielle *N. sativa* du Maroc et un chémotype avec 60,2 % p-cymène et 12,9%  $\gamma$ -terpinène est rapporté par Wajs (2008) pour une huile essentielle de *N. sativa* de Pologne. De plus, Burits et Bucar (2000) ont étudié la composition chimique des huiles essentielles de *N. sativa* d'Autriche et ont observé que la thymoquinone (27,2 à 57,0%) et le p-cymène (7,0 à 15,7%) étaient les principaux composés. Récemment, Bourgou et al. (2010) a mis en évidence que l'huile essentielle des graines de cumin noir de Tunisie a pour composant principal le p-cymène (60.5%)

**Tableau F: Composition de l'huile essentielle de *Nigella sativa* obtenue par SFE**

IR (HP-5)	IR (DB-WAX)	T1	T2	T3	E1	Composé	Classe
930	1032				0.4	$\alpha$ -Thujène	MH
1027	1271	7.6	5.4	5.4	11.0	o-Cymène	MH
1031	1200				0.7	Limonène	MH
1062	1247	0.6	0.6			$\gamma$ -Terpinène	MH
1179	1595			0.5		Terpinen-4-ol	MO
1198	1664		0.6			Méthyl chavicol	MO
1252	2989	77.2	78.1	86.2	79.5	Thymoquinone	MO
1293	1647	1.5				<i>trans</i> -Sabynil acetate	MO
1303	2201	5.8	7.9	2.9		Carvacrol	MO
1402	1556	2.4	2.0	2.0	1.9	Longifolène	SH

Total identifié	95.2	95.1	97.0	93.1	
% MH	6.0	8.2	5.4	11.7	
% MO	86.6	84.5	89.6	79.5	
% SH	2.6	2.4	2.0	1.9	

Légende:

IR (HP-5): Indice de rétention sur les colonnes HP-5

IR (DB-WAX) : Indice de rétention sur les colonnes DB-WAX

MH : Monoterpènes carbures

MO : Monoterpènes oxygénés

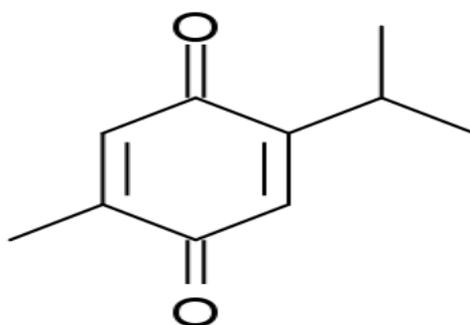
SH : Carbures sesquiterpéniques

T1 : Graines d'Antalya

T2 : Graines d'Aydin

T3 : Graines de Denizli

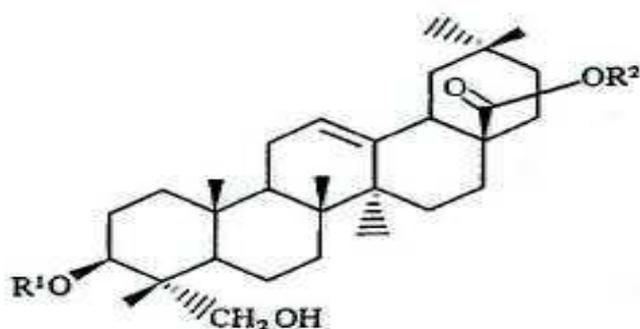
E1 : Graines d'Egypte



**Figure 14: Structure chimique de la thymoquinone dans l'huile essentielle de *Nigella sativa* L.(30)**

○ Saponosides (31)

Les saponosides sont des composés triterpéniques. La première saponine isolée par Greenisch en 1882 à partir des graines de *N. sativa* est la mélanthine (8). Akbar Ali Ansari a identifié et caractérisé en 1988 une autre saponine triterpénique à partir d'un extrait éthanolique de graines de Nigelle du Pakistan, la **3-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→3)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranosyl]-28-O-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl]-hédéragénine**.



- 1** R<sup>1</sup> = β-D-Xylp-(1→3)-α-L-Rhap-(1→2)-α-L-Arap-(1→2)-α-L-Arap-(1→2)  
 R<sup>2</sup> = α-L-Rhap-(1→4)-β-D-Glcp-(1→6)-β-D-Glcp-(1→6)
- 2** R<sup>1</sup> = β-D-Xylp-(1→3)-α-L-Rhap-(1→2)-α-L-Arap-(1→2)  
 R<sup>2</sup> = H

Une étude réalisée par Kumara et Huat (2001) a permis d'isoler à partir des graines de *Nigella sativa* un autre saponoside triterpénique l'α-hédérine. Une autre étude de Taskin (2005) a permis d'isoler à partir d'extrait méthanolique trois autres saponosides apparentées à l'α-hédérine :

- 3-O-β-D-xyl (1→3)-α-L-rha- (1→2)-α-L-ara-28-O-α-L-rha(1→4)-β-D-glu(1→6)-β-D-glu-hédéragénine;
- 3-O-α-L-rha-(1→2)-α-L-ara-28-O-α-L-rha(1→4)-β-D-glu(1→6)-β-D-glu-hédéragénine;
- 3-O-β-D-xyl(1→3)-α-L-rha-(1→2)-α-L-ara-hédéragénine.

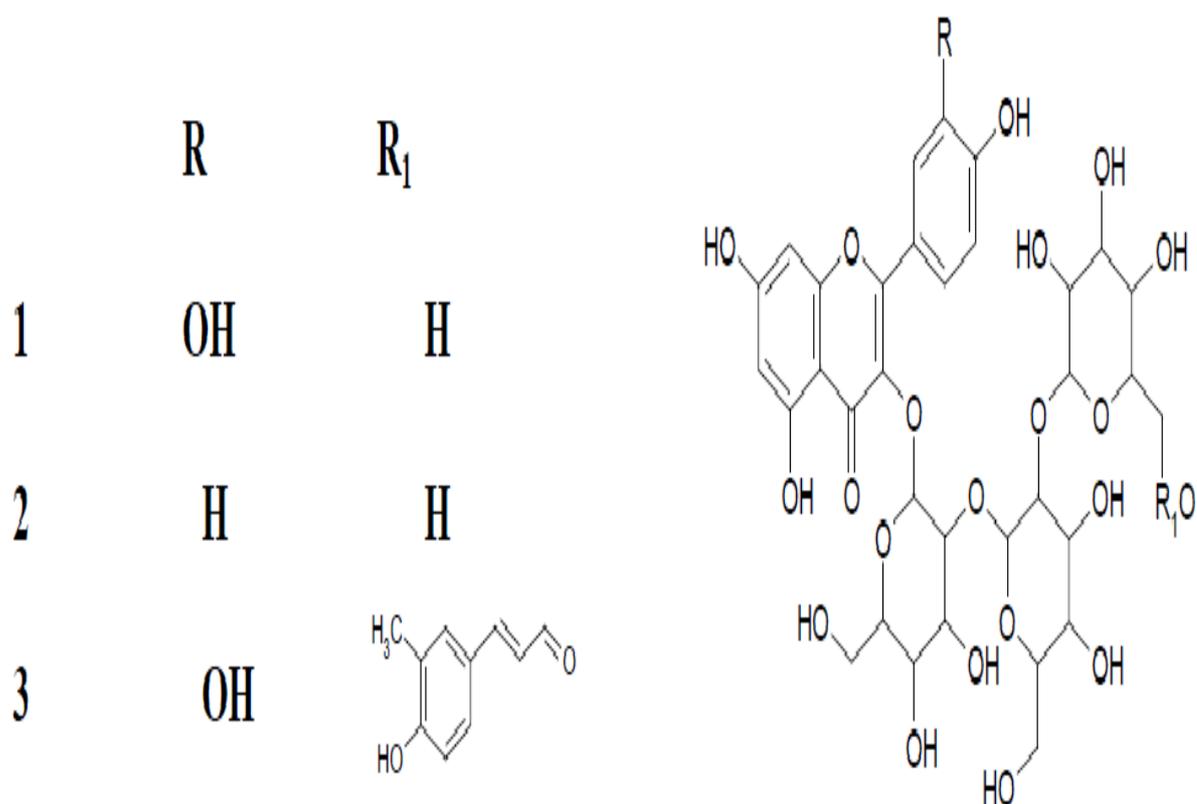
Récemment, une étude réalisée Mehta en 2008, a permis d'isoler un nouveau triterpène glycosylé, le **3-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→3)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl]-11-méthoxy-16-hydroxy-17-acétoxy hédéragénine** à partir d'un extrait éthanolique de graines de *Nigella sativa*.

### ○ Polyphénols et flavonoïdes (32)

Les polyphénols sont des métabolites secondaires naturels présents dans différentes parties des végétaux et omniprésents dans les légumes, les fruits et les graines. Parmi les composés phénoliques, il y a les flavonoïdes qui possèdent le même élément structural de base, l'enchaînement 2-phenylchromane. Ils peuvent être répartis en sept classes comprenant les flavones, les flavonols, les flavanols ou dihydroflavonols, les flavanones, flavan-3-ols, les flavan-3,4-diols et les anthocyanidols. Les autres polyphénols communs sont les acides phénols. Deux groupes d'acides phénols peuvent être distingués, les deux étant des dérivés hydroxylés d'acides carboxyliques aromatiques : acides benzoïques et acides cinnamiques. Les composés phénoliques diffèrent par leur structure en fonction du nombre et de la position des hydroxylations et des méthoxylations des composés aromatiques. Les polyphénols sont des anti-oxydants. Ils présentent également une large gamme d'activités pharmacologiques, notamment antimutagènes, antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antithrombotiques et vasodilatatrices. En particulier, ce sont des antioxydants piègeurs de radicaux libres, inhibant les systèmes enzymatiques responsables de la génération de radicaux libres et possèdent des propriétés réductrices.

Une étude menée en 2008 sur la composition en composés phénoliques et sur les activités pharmacologiques de pousses et de racines de *Nigella sativa* d'origine tunisienne a permis d'identifier des acides phénols et des flavonoïdes. Quatorze composés phénoliques ont été identifiés, il s'agit de l'acide gallique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide chlorogénique, l'acide vanillique, l'acide p-coumarique, l'acide férulique, l'acide trans-2-hydroxycinnamique, l'acide trans-cinnamique, l'épicatéchine, la (+)-catéchine, la quercétine, l'apigénine, l'amentoflavone. Les résultats ont montré une différence au niveau quantitatif dans la composition des pousses et des racines de *N. sativa* à l'exception des acides p-coumarique et férulique détectés uniquement dans les racines et de l'amentoflavone présente uniquement dans les pousses (voir Tableau G). En général, les différentes parties de la plante de *N. sativa* possèdent une composition similaire. L'acide vanillique a été détecté comme étant le principal composant phénolique dans les deux parties de la plante (rameaux et racines). L'acide gallique était également prédominant, mais légèrement plus élevé dans les racines. L'acide trans-cinnamique, la catéchine et l'apigénine ont également été trouvés avec une teneur appréciable dans les pousses comme le montre le tableau G. Dans cette étude, les pousses et les racines ont présenté un niveau élevé de composés phénoliques avec respectivement 215,373 mg/100 g d'échantillon sec et 135,756 mg/100g d'échantillon sec. De

plus, Sawa, qui a étudié la propriété anti-radicalaire de 17 composés phénoliques, a démontré que l'acide vanillique, principal composant phénolique des pousses et des racines de *N. sativa*, présentant des teneurs de 143,21 et 89,94 mg par 100 g de matière sèche, était un agent anti-oxydant intéressant.



**Figure 15 : Structures de trois flavonoïdes triglycosylées isolés par Metfort en 1997 à partir des graines de *Nigella sativa* (8)**

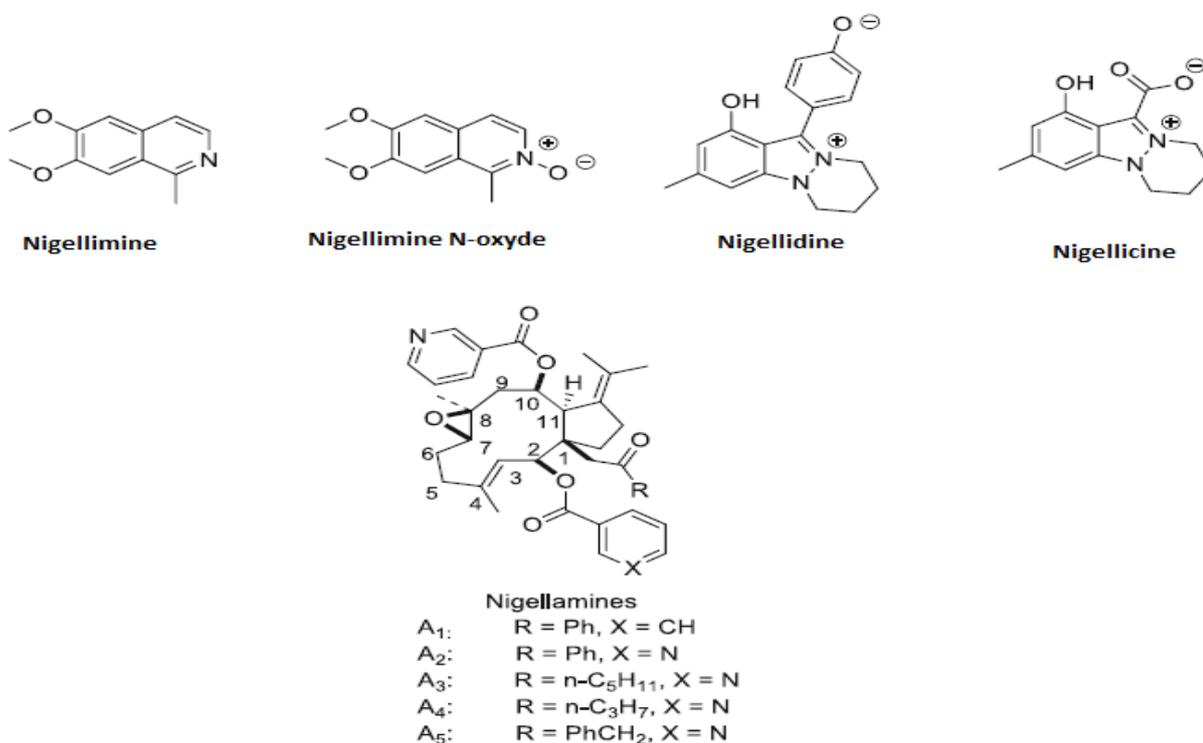
**Tableau G : Comparaison de la composition acides phénols et en flavonoïdes des pousses et les racines de *Nigella sativa* L.**

Compositions phénoliques	Contenu (mg/100g d'échantillon sec) Pousses de <i>Nigella sativa</i>	Contenu (mg/100g d'échantillon sec) Racine de <i>Nigella sativa</i>
<b>Acides phénols</b>		
Acide gallique	27.86±0.97	30.59±0.9
Acide p-dihydroxybenzoïque	n.d.	1.73±1.6
Acide chlorogénique	1.51±0.64	0.36±0.48
Acide syringique	n.d.	n.d.
Acide vanillique	143.21±0.23	89.94±0.92
Acide p-coumarique	n.d.	0.36±0.72
Acide férulique	n.d.	0.18±0.2
Acide trans-2-hydroxycinnamique	1.25±0.8	2.58±0.8
Acide trans-cinnamique	15.47±0.54	0.98±0.28
<b>Flavonoïdes</b>		
(-)-Epicatechine	1.28±0.61	0.64±0.54
(+)-Catéchine	7.26±0.97	3.4±0.74
Quercétine	2.56±0.43	2.61±0.69
Apigénine	6.83±0.44	1.77±0.61
Amentoflavone.	2.91±0.81	n.d.
Flavone	3.4±0.33	0.54±0.8
<b>Total</b>	215.373	135.756

## ○ Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances présentant un atome azoté inclus dans un hétérocycle, et sont des composés basiques. En effet, ces substances naturelles de structure complexe, importantes chez les végétaux, présentent à faible dose une multitude d'activités pharmacologiques telles qu'anti-tumorale, antiparasitaire, qui à forte dose peuvent devenir très toxiques. Les alcaloïdes majoritaires dans les graines de *Nigella sativa L.* sont :

- La nigellicine et la nigellidine, possédant un noyau indazolique (Atta-Ur-Rahman et al., 1985 et 1995)
- L'isoquinone nigellimine et sa dérivée la nigellimine N-oxyde (Atta-Ur-Rahman et al., 1985 et 1992)
- Les alcaloïdes types nigellamines A1, A2, B1, B2 (Morikawa et al., 2004a), A3, A4, A5, et C (Morikawa et al., 2004b)



**Figure 16 : Alcaloïdes majoritaires dans la graine de *Nigella sativa L.* (33)**

### 3. ÉTUDES PHARMACOLOGIQUES DE *Nigella sativa* L.

#### a) **Activité antioxydante**

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) comprennent le radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, les radicaux peroxy  $\text{ROO}\cdot$ , le radical hydroxyle  $\text{HO}\cdot$ , ainsi que les espèces réactives de l'azote telles que l'oxyde nitrique (NO) et le peroxyde nitrite. Les ROS sont principalement responsables de l'initiation de la réaction d'oxydation dans les aliments, ils modifient les fonctionnalités des protéines, des lipides et des glucides en formant des composés oxydés et des trimères (Frankle 2005). Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif affecte les principaux composants cellulaires, notamment les lipides, les protéines et l'ADN, et est impliqué dans des maladies cardiovasculaires (athérosclérose), inflammatoires (asthme, polyarthrite rhumatoïde, allergies), maladies neurodégénératives (Parkinson et Alzheimer). et le vieillissement cellulaire (Kris-Etherton et coll., 2004, Laguerre, 2007). Plusieurs antioxydants synthétiques tels que l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT) et la tertbutylhydroquinone (TBHQ) sont utilisés pour la prévention des réactions oxydatives dans les aliments, les produits pharmaceutiques et les cosmétiques. Cependant, leur innocuité suscite de plus en plus d'inquiétudes, car plusieurs études ont montré que certains antioxydants synthétiques présentaient des propriétés mutagènes et un potentiel de cancérogénèse (Pan, 2007). De nombreuses études, *in vitro* et *in vivo*, ont permis de mettre en évidence l'activité antioxydante de *Nigella sativa* L. et de ses constituants.

- **Études *in vitro*** : Une étude menée en 2010 (33) a mis en évidence l'activité antioxydante d'extraits de *Nigella sativa* L. obtenus à partir des graines, des racines et des pousses. En effet, ces trois organes ont montré une forte activité antioxydante en utilisant la méthode de capacité d'absorption des radicaux oxygénés (ORAC) et un test avec le 2',7'-dichlorofluoresceine-diacétate (DCFH-DA). Le potentiel antioxydant des différentes parties de *N. sativa* a été évalué en utilisant le test ORAC. L'indice ORAC a été largement utilisé dans l'évaluation de la capacité anti-oxydante d'un aliment. Cette technique mesure la protection conférée par un antioxydant à une molécule cible qui est oxydée par  $\text{ROO}\cdot$ .

Les pousses et des racines de *N. sativa* ont été récoltées en mai 2006, tandis que les graines ont été récoltées à maturité en juillet 2006 à partir de plantes cultivées de la région de Menzel Temime (nord-est de la Tunisie). Les pousses, les racines et les

graines (10 g) sous forme de poudre ont été extraites par reflux avec du méthanol pendant 1 h puis avec du méthanol à 80% pendant 3 h. L'extrait méthanolique de graines a été ensuite séparé avec de l'eau et de l'hexane. Par la suite, les différents extraits ont été concentrés sous vide et enfin lyophilisés pour donner un extrait méthanolique de pousses (SME), un extrait méthanolique de racines (RME), un extrait aqueux de graines (SWF), un extrait hexanique de graines (SHF). Les extraits ont montré une activité anti-oxydante importante, en particulier un extrait méthanolique de pousses (SME) s'est révélé le plus actif suivi d'un extrait méthanolique de racines (RME). L'activité anti oxydante de l'extrait méthanolique des graines était élevée et huit fois plus forte que celle d'un extrait hexanique des graines, ce qui suggère que l'extrait méthanolique était plus riche en composés antioxydants, ce qui confirme les études antérieures où les solvants polaires sont plus appropriés pour extraire des antioxydants que les solvants apolaires (Negi, 2005). L'activité anti-oxydante, par ordre décroissant, était la suivante : SME (extrait méthanolique à partir des pousses)> RME (extrait méthanolique à partir des racines)> SWF (extrait aqueux à partir des graines)> SHF (extrait hexanique à partir des graines). Cependant, les valeurs ORAC observées pour les extraits (SME, RME, SWF, SHF) de *N. sativa* se rapprochent constamment de celles généralement observées pour des extraits de plantes connues pour leurs propriétés antioxydantes comme les extraits de myrtille, de fraise et d'origan (Ou, 2001 ; Huang, 2002 ; Su, 2007). Ainsi, il a été démontré pour la première fois que les extraits préparés à partir de différentes parties de *N. sativa*, sont efficaces dans le piégeage des espèces réactives de l'oxygène et possèdent une activité anti-oxydante et anti-radicalaire par transfert d'atome d'hydrogène. L'activité anti-oxydante d'extraits de pousses, de racines et de graines a également été évaluée à l'aide d'un test réalisé sur des cellules utilisant DCFH-DA, un indicateur des ROS. Ce test a été développé comme un nouveau test sensible permettant de détecter à la fois les propriétés anti- et pro-oxydantes. L'activité anti-oxydante a été évaluée en utilisant l'essai au 2', 7'-dichlorofluorescine-diacétate (DCFH-DA) comme décrit par Girard-Lalancette (2009). Brièvement, les cellules WS-1 (fibroblastes cutanés humain normaux) ont été mis en culture dans des microplaques à 96 puits à raison de 10 000 cellules par puits et incubées pendant 24 h à 37 ° C sous 5% de CO<sub>2</sub>. Les cellules ont été lavées avec 150 ml de solution saline équilibrée de Hank (HBSS) à pH 7,4 et incubées pendant 30 minutes avec 100 ml de HBSS (pH 7,4) contenant 5 mM de DCF-DC. Les cellules ont ensuite été lavées à nouveau avec 150 ml HBSS. Pour

évaluer l'activité anti-oxydante, les cellules ont été incubées avec des concentrations croissantes en extraits, en l'absence ou en présence de 200 mM de tert-butylhydroperoxyde (t-BuOOH). La fluorescence a été mesurée immédiatement après l'introduction de t-BuOOH et encore 90 min plus tard, en utilisant un lecteur de plaque Fluoroskan Ascent FI™ (Fluoroskan Ascent FI, Thermo LabSystems) à une longueur d'onde d'excitation de 485 nm et une longueur d'onde d'émission de 530 nm. Les résultats ont montré que les parties de plantes (graines, racines, pousses) de *N. sativa* inhibent fortement l'oxydation de DCFH induite par le tert-butylhydroperoxyde (t-BuOOH). L'extrait de SWF (l'extrait aqueux de graine) était le plus efficace, présentant une valeur de  $CI_{50}$  de 0,11 mg / mL, suivie par les extraits de RME (l'extrait méthanolique de racines) et de SME (l'extrait méthanolique de pousses), avec une valeur  $CI_{50}$  de 0,16 et 0,18 mg / mL, respectivement. Ce résultat indique que les extraits (SWF, RME, SME) de *N. sativa* inhibent significativement la production de ROS et présentent ainsi la capacité de protéger les cellules du stress oxydatif. En fait, les propriétés anti-radicalaires anti-péroxyde des extraits naturels sont généralement attribuées aux réactions d'oxydo-réduction en liaison avec les composés phénoliques. En effet, les composés phénoliques peuvent agir comme des donneurs d'hydrogène aux radicaux  $ROO^{\cdot}$ , avant que ces derniers réagissent avec des molécules biologiques (ADN, protéines, lipides...).

En 2000, Burits et Bucar ont étudié la capacité de l'huile essentielle, obtenu à partir de graines de *Nigella sativa*, à agir comme un piègeur de radicaux. Divers tests pharmacologiques ont été réalisés pour étudier l'activité de différents composés de la graine de Nigelle (El-Dakhkhny, 1965, Mahfouz, 1965, Marozzi, 1970, Akhtar, 1996, Khanna, 1993). Cependant, l'activité de l'huile essentielle de *N. sativa* est peu connue (Mahmoud et Shaheen, 1996, El-Kamali, 1998). Des expériences préliminaires (Houghton, 1995) ont montré que l'huile essentielle et la thymoquinone, le composé principal de l'huile essentielle de *Nigella sativa*, inhibent la peroxydation des lipides. Le but de cette étude était d'évaluer les propriétés anti-oxydantes de l'huile essentielle de graines de cumin noir et d'identifier le/les composant(s) impliqués. De plus, les principaux composés de plusieurs échantillons de graines de cumin noir ont été identifiés par GC-MS. Les composés principaux appartiennent à la classe chimique des monoterpènes. Ce sont la thymoquinone (30% -48%), le p-cymène (7% -15%), le carvacrol (6% -12%), le 4-terpinéol (2% -7%), le trans-anéthole (1% -4%) et un

sesquiterpène longifolène (1% -8%). Le test au DPPH a été utilisé pour mesurer la capacité anti oxydante de l'huile essentielle et de ses constituants. L'huile essentielle et les composés purs étaient capables de réduire le radical stable DPPH. L'activité la plus élevée a été mesurée pour le carvacrol. Le test de la peroxydation lipidique à partir de l'huile essentielle, de la thymoquinone, du carvacrol, du trans-anéthole et du 4-terpinéol a permis d'examiner leur capacité à agir comme agents de piégeage des radicaux HO<sup>•</sup>, délétères pour les molécules biologiques (ADN, protéines, lipides...). Les résultats ont montré que l'huile essentielle de *N. sativa* présentait un important effet antioxydant, 0,0011 mg de celle-ci pourrait inhiber 50% de la peroxydation lipidique. La CI<sub>50</sub> pour la thymoquinone était de 1,84 mg / mL et de 9,3 mg / mL pour le carvacrol. Le test de dégradation du désoxyribose permet de détecter la capacité de dégradation du désoxyribose par les radicaux libres HO<sup>•</sup>. Il consiste à incuber de l'EDTA ferrique avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et de l'acide ascorbique à pH 7,4. Des radicaux HO<sup>•</sup> ont été formés et ont été détectés par leur capacité à dégrader le désoxyribose en fragments qui, en chauffant avec de l'acide thiobarbiturique à faible pH, forment un composé de couleur rose. Quand l'huile essentielle de Nigelle ou ses composants actifs ont été ajoutés au mélange réactionnel, ils ont éliminé les radicaux HO<sup>•</sup> et empêché la dégradation du désoxyribose. Le carvacrol était l'inhibiteur le plus efficace de la dégradation du désoxyribose avec une CI<sub>50</sub> de 21 mg/mL. Ainsi, dans une série de tests *in vitro*, l'huile essentielle a montré une activité antioxydante. Elle agit comme donneur d'hydrogène dans le test au DPPH et possède des propriétés de piégeage des radicaux hydroxyles à la fois dans le test de la peroxydation lipidique et le test au désoxyribose. En observant et en comparant les résultats de l'huile essentielle et des composés purs dans les différents essais, il semble que les trois monoterpènes et le t-anéthole ne sont pas les seuls composés piègeurs de radicaux libres dans l'huile essentielle (34).

- **Etudes *in vivo*** : Une étude a été réalisée en 2009 (35) pour étudier les effets d'une fraction enrichie en thymoquinone (TQRF) obtenu à partir de l'huile végétale de *N. sativa* et de la thymoquinone seule (TQ) sur l'activité antioxydante, les niveaux d'enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase 1 (SOD1), la catalase et la glutathion peroxydase 2 (GPX) et leur expression génique chez les rats présentant une hypercholestérolémie induite. Les graines de *N. sativa* ont été nettoyées et séchées dans un four à 40°C jusqu'à obtention d'un poids constant. La TQRF a été

préparée en utilisant un extracteur de fluide supercritique (SFE). 100 g de graines séchées ont été pulvérisées pendant 3 minutes dans un broyeur en acier inoxydable et placées dans un récipient en acier inoxydable de 1 litre. Après que le récipient ait été hermétiquement fermé, les paramètres d'extraction ont été réglés à une pression de 600 bars et à une température de 40 °C. La pression a été générée avec un débit de dioxyde de carbone constant à 30 g / min et régulée par un régulateur de contre-pression automatisé. Le processus d'extraction a duré 3 h et la TQRF a été recueillie à partir du récipient de collecte après dépressurisation à 100 bars. La TQRF produite en utilisant l'extraction par les fluides supercritiques selon la procédure ci-dessus est riche en TQ ( $2.00 \pm 0.17\%$  w/w). Les rats ont reçu un régime riche en cholestérol et ont été traités avec la TQRF et la TQ, pendant 8 semaines. Les régimes riches en cholestérol sont associés à la production de radicaux libres, suivis d'un stress oxydatif et d'une hypercholestérolémie. D'autre part, le stress oxydatif est l'un des facteurs qui relie l'hypercholestérolémie à l'athérogénèse. Il existe des preuves que le stress oxydatif contribue au développement de l'athérosclérose dans la paroi vasculaire à travers la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). La protection contre les ROS et les produits de dégradation des lipides oxydés et des protéines est assurée par des enzymes antioxydantes telles que la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GPX). Les taux plasmatiques de cholestérol total et de cholestérol à lipoprotéines de basse densité (LDL-C) étaient significativement diminués chez les rats traités à la TQRF et à la TQ par rapport aux rats non traités. Nourrir des rats avec un régime avec 1% de cholestérol pendant 8 semaines a entraîné une diminution significative de la capacité antioxydante, mesurée par la diminution de la capacité à piéger les radicaux hydroxyles. Cependant, les rats traités avec la TQRF et la TQ à diverses doses ont montré une activité inhibitrice significative vers la formation de OH<sup>•</sup> par rapport aux rats non traités. L'examen des taux d'expression de l'ARNm de CAT, SOD1, GPX montre que le traitement par la TQRF et la TQ a provoqué une régulation positive des gènes de l'expression de la superoxyde dismutase 1 (SOD1), de la catalase et de la glutathion peroxydase 2 (GPX) par rapport aux rats non traités.

- En conclusion, TQRF et TQ ont effectivement amélioré l'activité anti-oxydante et amélioré l'expression des gènes codant pour des enzymes anti-oxydantes chez les rats hypercholestérolémiques. Ceci est en accord avec les résultats de Houghton, qui ont rapporté que l'huile végétale de la graine de *N. sativa* possédait une plus grande

capacité antioxydante grâce à la TQ. En outre, les résultats montrent que la TQRF pourrait contenir d'autres composés bioactifs, qui agissent indépendamment ou en synergie avec la TQ, pour améliorer la capacité anti-oxydante. L'acide oléique, l'un des principaux acides gras dans l'huile des graines de *N. sativa*, est capable de reconstituer la capacité anti-oxydante du plasma et pourrait jouer un rôle important dans l'activité anti-oxydante de la TQRF. En effet, l'acide oléique représentait 21,49% de la TQRF dans cette étude. Outre l'acide oléique, l' $\alpha$ -tocophérol et les phytostérols sont également des composés pouvant contribuer à l'activité antioxydante de la TQRF.

### **b) Activités anti-inflammatoires (36) (37)**

Les réactions inflammatoires sont des processus biologiques protecteurs mettant en œuvre des médiateurs endogènes pour éliminer les stimuli nocifs. Les médiateurs inflammatoires les plus courants comprennent les eicosanoïdes, les cytokines, les chimiokines et les enzymes lytiques. Ceux-ci sont souvent sécrétés par les macrophages et les neutrophiles, mais peuvent également être produits par le tissu lésé. De plus, les enzymes cyclooxygénase (COX) et lipoxygénase (LO) sont des facteurs clés dans la biosynthèse des prostaglandines (PG) et des leucotriènes (LTs), qui sont impliqués dans les réponses inflammatoires. En dépit d'être un processus biologique protecteur, l'inflammation peut avoir des conséquences néfastes dans le tissu affecté conduisant à ses dommages (lésions sur l'ADN, les protéines cellulaires essentielles et les lipides membranaires...), surtout si la réaction inflammatoire est accompagnée par la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). L'oxyde nitrique (NO) est un radical libre hautement réactif qui pourrait déclencher des réactions oxydatives toxiques entraînant une inflammation et des lésions tissulaires.

- ***In vitro* :**

Houghton a montré que l'huile végétale de *N. sativa* inhibait significativement les voies de la cyclooxygénase (COX) et de la 5-lipoxygénase (5-LO) du métabolisme de l'acide arachidonique des leucocytes péritonéaux chez le rat inhibant la formation des métabolites thromboxane B2 (TXB2) et leucotriène B4 (LTB4). En effet, le traitement à l'huile végétale de *N. sativa* était accompagné d'une inhibition de la production de 5-LO et d'acide 5-hydroxyleicosa-tétra-énoïque (5-HETE) dans les leucocytes polymorphonucléaires de rat avec une concentration inhibitrice 50% de  $25 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ ,  $24 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ , respectivement(38).

Mutabagani et El-Mahdy ont montré les effets anti-inflammatoires de l'huile végétale de *N. sativa* en évaluant l'œdème de la patte postérieure induite par la carragénine et la formation de granulomes en graine de coton chez le rat (39). L'injection intrapéritonéale d'huile végétale de *N. sativa* (0,66 ml et 1,55 ml/kg) a conduit à une suppression dose-dépendante significative de l'œdème de la patte arrière de 64,1% et 96,3%, respectivement. De plus, l'injection intrapéritonéale d'huile végétale de *N. sativa* (0,33 ml et 0,66 ml / kg) a réduit significativement les granulomégalites respectivement de 17,6% et de 46,9%. Ces effets étaient comparables à ceux induits par l'indométhacine (3 mg / kg), qui inhibaient l'œdème de 46,9% et la formation de granulomes de 34,4%. Les chercheurs ont suggéré que de tels effets anti-inflammatoires de l'huile végétale de *N. sativa* pouvaient être attribués à une inhibition de la génération d'eicosanoïdes et de la peroxydation lipidique. Des constatations très similaires sur l'utilisation de graines de *N. sativa* a été rapportée chez la souris. De plus, Al-Ghamdi a démontré qu'un extrait aqueux de *N. sativa* (500 mg / kg) réduisait significativement l'inflammation induite par la carragénine (œdème de la patte) chez des rats albinos Wistar et des souris albinos (40). Les effets anti-inflammatoires de *N. sativa* étaient comparables à 100 mg / kg d'aspirine. Ghannadi a rapporté des effets anti-inflammatoires et analgésiques similaires des polyphénols des graines de *N. sativa*. Par ailleurs, Mahmoud a démontré qu'un extrait aqueux de *N. sativa* présentait un effet inhibiteur sur la production de NO dans les macrophages murins.

- ***In vivo*** :

Des études ont démontré que *N. sativa* exerce des effets anti-inflammatoires qui peuvent être efficaces sur la polyarthrite rhumatoïde (PR), l'encéphalomyélite allergique expérimentale (EAE) et la colite ulcéreuse induite par l'acide acétique (41). Une étude récente menée par Nikakhlagh a étudié le rôle anti-inflammatoire de l'huile végétale de *N. sativa* chez des patients atteints de rhinite allergique. Dans cette étude, les patients ont consommé des capsules placebo ou des capsules contenant 0,5 ml d'huile végétale de *N. sativa* quotidiennement pendant 30 jours. Il a été démontré que le traitement à l'huile de *N. sativa* pouvait supprimer de manière significative la congestion nasale, les démangeaisons nasales, les éternuements, l'hypertrophie des cornets et la pâleur des muqueuses. L'étude n'a pas évalué les effets potentiels de composants spécifiques de l'huile de *N. sativa* ni mis en évidence les voies biochimiques sous-jacentes aux effets protecteurs de l'huile de *N. sativa* contre la rhinite allergique. Au contraire, les résultats étaient principalement basés sur des comparaisons entre

les concentrations d'éosinophiles et d'IgE. De plus, l'administration par voie orale d'un extrait hexanique de *N. sativa* a significativement réduit les symptômes cliniques (concentration plasmatique de la protéase-1 des cellules mastocytaires (MMCP-1) et nombre de mastocytes intestinaux) associés à l'allergie à l'ovalbumine chez la souris avec aucun effet sur les taux d'IgE, les taux d'IgE spécifiques de l'ovalbumine ou l'interleukine IL-4, IL-5, IL-10 et l'interféron  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) libérés par les lymphocytes mésentériques après une re-stimulation *ex vivo* par l'ovalbumine (42). Yousefi a évalué la signification physiologique des propriétés anti-inflammatoires de *N. sativa* dans le traitement de l'eczéma des mains. Cette étude représente un essai clinique comparant le potentiel de *N. sativa* à celui de la bétaméthasone, stéroïde glucocorticoïde aux propriétés anti-inflammatoires et immunosuppressives, pour soulager l'eczéma des mains. Les résultats ont indiqué que *N. sativa* semble être aussi efficace que la bétaméthasone dans l'amélioration de l'état clinique et la qualité de vie des patients atteints d'eczéma et dans la gravité de la maladie (43). Dans une étude récente, Abdel-Aziz a suggéré que l'huile végétale de *N. sativa* réduit le nombre d'éosinophiles dans le sang périphérique et améliore l'inflammation pulmonaire dans un modèle murin d'asthme allergique. Dans une autre étude, un extrait hydroéthanolique de graines de *N. sativa* montre des effets préventifs sur la réponse trachéale dans un modèle de maladie pulmonaire obstructive chronique (BPCO) chez le cobaye. Dans un essai clinique très récent, Hadi a étudié les effets anti-oxydants et anti-inflammatoires de l'huile végétale de *N. sativa* chez des patients atteints de Polyarthrite rhumatoïde (PR). En effet, l'administration orale d'huile végétale de *N. sativa* (1 g / patient / jour) sous forme de gélules pendant 8 semaines était associée à une teneur en IL-10 significativement élevée, des taux sériques de facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) bas, suggérant que l'huile de *N. sativa* ou d'autres extraits peuvent être potentiellement utilisés en combinaison avec des médicaments contre la PR pour soulager les réponses inflammatoires chez les patients atteints de PR (44). Dans une étude *in vivo*, il a été démontré que l'irradiation corporelle de rats entraînait une réduction significative des titres d'hémolysines (hémolysines désignent des immunoglobulines dirigées contre les érythrocytes), de la concentration plasmatique totale de protéines et de la concentration de globulines, ainsi qu'une hypersensibilité retardée, une leucopénie, une déplétion des follicules lymphoïdes de la rate et du thymus. De plus, l'irradiation a entraîné une augmentation significative de la concentration en malondialdéhyde avec une diminution significative de l'activité de la glutathion peroxydase plasmatique, de la catalase et de la superoxyde dismutase des érythrocytes. L'administration orale de l'huile végétale de *N. sativa* (1 ml / kg / jour pendant 5 jours/semaine) avant l'irradiation a considérablement atténué les effets

biochimiques, immunologiques et pathologiques liés à l'irradiation. Très récemment, un essai clinique a révélé que les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde qui recevaient une dose quotidienne de 1 g d'huile végétale de *N. sativa* pendant 8 semaines présentaient des taux sériques significativement plus bas de NO et de malondialdéhyde (MDA), un biomarqueur de la peroxydation lipidique sans effet significatif sur la l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) ou de la catalase (CAT), enzymes anti-oxydantes. Cette étude clinique suggère que *N. sativa* peut potentiellement réduire certains aspects du stress oxydatif, et donc, peut être utilisé comme traitement adjuvant pour gérer le stress oxydatif chez les patients atteints de PR. Les propriétés anti-inflammatoires *in vivo* de la TQ ont fait l'objet d'études approfondies dans deux principales maladies inflammatoires, la colite ulcéreuse et l'EAE (Encéphalomyélite allergique expérimentale). La colite ulcéreuse est une maladie inflammatoire caractérisée par des symptômes d'inflammation aiguë, d'ulcération et de saignement de la muqueuse colique. Les facteurs inflammatoires tels que les eicosanoïdes et les ROS jouent un rôle dans la progression de cette maladie. Il a été établi que les substances ayant des propriétés anti-inflammatoires et/ou anti-oxydantes ont tendance à améliorer significativement ces symptômes. L'injection intra-colique chez les rats de 3% d'acide acétique provoque une colite sévère chez les rats. Mahgoub a démontré que le prétraitement des rats avec 5 mg / kg de TQ pendant 3 jours offrait une protection partielle contre la colite induite par l'acide acétique par rapport aux rats témoins. En effet, une dose de 10 mg/kg de TQ conduit à une protection complète des rats contre la colite induite par l'acide acétique. De manière intéressante, 10 mg / kg de TQ ont conduit à une meilleure protection contre la colite induite par l'acide acétique chez le rat comparé à 500 mg / kg de sulfasalazine, un médicament anti-colite. Dans une étude plus récente réalisée par Duncker, le rôle anti-inflammatoire de la TQ, extrait de graines de *N. sativa*, a été étudié chez des souris BALB/C sensibilisées à l'ovalbumine contre la diarrhée allergique. Le prétraitement avec la TQ (13 µg / kg) a entraîné une réduction du nombre de mastocytes intestinaux et de l'expression de MMCP-1 par rapport aux animaux témoins, réduisant ainsi les scores cliniques globaux de la diarrhée allergique induite par l'ovalbumine. Le traitement par la TQ n'a eu aucun effet significatif sur les IgE plasmatiques totales ou les taux d'IgE spécifiques de l'ovalbumine et le traitement intra-gastrique des souris avec la TQ n'ont pas affecté la sécrétion d'IL-4, IL-5, IL-10 ou IFN $\gamma$  par les lymphocytes mésentériques après re-stimulation *ex vivo* par l'ovalbumine. Récemment, il a été démontré que TQ réduisait de manière significative la production de NO dans des cellules gliales primaires de rats. La TQ s'est également révélée efficace contre l'EAE, une maladie auto-immune à médiation cellulaire T du système nerveux central. Des études suggèrent que le stress oxydatif est l'une

des principales causes de la progression de l'Encéphalomyélite allergique expérimentale, qui peut être d'une sévérité accrue sur la prolifération des cellules gliales du système nerveux central (astrocytes) et l'infiltration des cellules inflammatoires. Des données expérimentales indiquent qu'une dose quotidienne de 1 mg / kg de TQ dans un modèle d'EAE chez le rat a amélioré le signe clinique de l'EAE. Le traitement à la TQ a entraîné une inhibition significative de l'infiltration des cellules mononucléaires dans le cerveau et la moelle épinière, ainsi qu'une augmentation significative des taux de glutathion dans les globules rouges. Par conséquent, les effets bénéfiques de la TQ contre l'EAE sont dus à sa capacité à agir comme un inducteur du glutathion, permettant à la TQ de servir d'agent anti-oxydant et anti-inflammatoire. Ceci suggère que la TQ pourrait être un agent thérapeutique prometteur dans le traitement de l'EAE et de troubles similaires tels que la sclérose en plaques. De plus, une étude récente a démontré qu'une seule dose de 3 mg / kg de TQ semble exercer des effets protecteurs significatifs dans le modèle de Polyarthrite rhumatoïde induit par adjuvant chez le rat et dans un modèle d'asthme chez le cobaye. Très récemment, l'alimentation de rats Sprague Dawley (rats non consanguin albinos) a été complétée avec de l'huile végétale de *N. sativa* (4%) et de l'huile essentielle (0,3%) pendant 56 jours ce qui a augmenté l'activité de plusieurs enzymes anti-oxydantes y compris la glutathion S-transférase (GST), la glutathion réductase (GR), la glutathion peroxydase (GPx), la catalase (CAT) et la superoxyde dismutase (SOD).

### c) **Activités immunomodulatrices** (45) (46)

Mis à part ces effets anti-inflammatoires, antioxydants, et anti-tumoraux, les initiatives de recherche se développent considérablement pour évaluer le potentiel de *N. sativa* à moduler l'immunité acquise. Un chercheur dénommé Haq a examiné les effets d'extraits de graines de *N. sativa* sur la réponse des cellules mononuclées du sang périphérique humain (PBMC) sur l'activation mitotique du noyau cellulaire *in vitro* (47). Ces extraits obtenus à partir de 25 g de graines de *N. sativa* ont été lavés avec 300 ml d'eau, séchées et réduites en poudre. 10 g de poudre ont été mélangés avec 100 ml de solution saline tamponnée (tampon PBS, pH 7,2) et centrifugés à 10 000 tr / min pendant 30 minutes à 4 ° C et le surnageant a été recueilli en tant qu'extrait soluble. Les extraits de *N. sativa* ont montré des effets stimulants sur la réponse des PBMC aux mitogènes, mais pas à la phytohéماغglutinine (PHA) ou à la concanavaline A (ConA), deux mitogènes des cellules T (47). Les extraits de *N. sativa* ont augmenté la sécrétion d'IL-3 à partir des PBMC cultivées en présence ou en l'absence de cellules

allogéniques regroupées, mais aucun effet sur la sécrétion d'IL-2 par les PBMC stimulées par les mitogènes n'a été observé. Plus tard, et en utilisant des cultures lymphocytaires mixtes, le même groupe a démontré que des extraits protéiques purifiés de graines de *N. sativa* exerçaient un rôle stimulant sur les lymphocytes non stimulés et suppressif sur les lymphocytes activés par le mitogène (PWM) (48). Les extraits de *N. sativa* n'ont eu aucun effet sur la sécrétion d'IL-4 par les lymphocytes, tant en présence qu'en absence de PWM (48). Ces résultats indiquent que *N. sativa* exerce des effets stimulants profonds sur l'immunité cellulaire. *In vivo*, l'huile végétale de *N. sativa* stimule également les lymphocytes T CD4 + (helper) dans un modèle de cytomégalovirus murin (CMV) utilisant des souris BALB / C (souche sensible à ce virus) (49). De plus, l'administration par voie orale d'une huile végétale de *N. sativa* (2 ml/kg) pour une période de 12 semaines a provoqué une diminution significative des leucocytes et des numérations plaquettaires chez les rats, de 41% et 32% respectivement (50). Dans une autre étude *in vivo*, il a été démontré que l'administration orale d'huile végétale de *N. sativa* améliorait significativement la numération lymphocytaire (c'est-à-dire la prolifération lymphocytaire) dans le sang périphérique des hamsters diabétiques induits par la streptozotocine (STZ) substance chimique naturelle, particulièrement toxique pour les cellules bêta du pancréas produisant l'insuline chez les mammifères (51). Les effets immunomodulateurs possibles de l'huile essentielle de graines de *N. sativa* ont été évalués chez des rats qui ont été exposés à un antigène spécifique (TH typhoïde) (52). Les graines de *N. sativa* ont été mis dans un moulin à huile pour obtenir une huile qui a été soumise à une distillation à la vapeur suivie d'une extraction du distillat avec du n-hexane. L'élimination du n-hexane a donné l'huile volatile (rendement 0,4% v / v), stockée à 4 ° C. L'administration orale de l'huile volatile de *N. sativa* chez les rats exposés à l'antigène a diminué significativement le nombre de splénocytes (36%) et de neutrophiles (43%) tout en augmentant le nombre de lymphocytes périphériques de 40% et de monocytes de 10% (52). Onifade a présenté une étude de cas réalisée sur un homme infecté par le VIH âgé de 46 ans, qui a montré un rétablissement complet et une séroconversion de l'infection par le VIH après un traitement avec un mélange à base de *N. sativa* (60% de graines de *N. sativa* et 40% de miel) pendant une période de 6 mois (53). L'étude a révélé qu'une consommation quotidienne de 20 ml d'un mélange à base de *N. sativa* entraînait la disparition de la fièvre, de la diarrhée et de multiples lésions prurigineuses dès le jour 5, le jour 7 et le jour 20 après l'administration de *N. sativa* (53). Le nombre de cellules CD4<sup>+</sup> a chuté de 250 cellules / mm<sup>3</sup> à 160 cellules / mm<sup>3</sup> malgré une réduction significative de la charge virale du VIH (~ 27 000 copies / ml à ~ 1000 copies / ml) après 30 jours du régime de *N. sativa*. À la fin de l'étude

(après 6 mois), le dépistage VIH était séronégatif et le nombre de cellules CD4 + augmentait significativement à 650 cellules / mm<sup>3</sup> avec une charge virale indétectable (VIH-ARN), paramètres qui persistaient au moins 2 ans après l'achèvement de la thérapie de *N. sativa*. Cette étude montre la possible efficacité thérapeutique de *N. sativa* contre l'infection par le VIH. Cependant, de telles études doivent être réalisées en utilisant des graines de *N. sativa* sans aucun additif pour confirmer de façon concluante un effet thérapeutique de *N. sativa* dans le traitement de l'infection par le VIH.

#### d) Activités infectieuses

- **Activités antibactériennes (54)**

Une étude menée en 2010 (55) a montré une activité antibactérienne de la **fraction hexanique de l'extrait méthanolique** (SHF) obtenu à partir des graines de *Nigella sativa* sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. En effet, l'étude montre que SHF possèdent des effets inhibiteurs contre les souches avec des valeurs CI<sub>50</sub> de 38,0 mg/mL pour *S. aureus* et 80,0 mg/mL pour *E. coli*. Ainsi, SHF semble contenir des composés antibactériens apolaires actifs. L'activité peut être liée à l'action caractéristique de la thymoquinone. En fait, Inouye en 2006 a étudié l'activité de diverses quinones et a indiqué que la **thymoquinone** est un agent antifongique et antibactérien. Cependant, les résultats indiquent que l'activité SHF était plus élevée contre les bactéries Gram positive que Gram négative. Singh en 2005 a testé l'activité antibactérienne d'un extrait d'acétonique obtenu à partir de graines de *N. sativa* et a trouvé une plus grande activité contre les bactéries Gram positive que Gram négative. La différence de sensibilité entre les bactéries Gram positive et Gram négative pourrait être attribuée aux différences dans les constitutions morphologiques entre ces microorganismes. Les bactéries Gram négative ont une membrane phospholipidique externe, presque imperméable aux composés lipophiles. L'absence de cette barrière dans les bactéries Gram positive permet le contact direct des constituants hydrophobes avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, où ils provoquent leur effet, provoquant soit une augmentation de la perméabilité aux ions et une fuite des constituants intracellulaires vitaux, soit une altération des systèmes enzymatiques bactériens. Une autre étude réalisée en 2016 (56) a évalué l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *N. sativa* (4 µl en dilution) par rapport à divers isolats cliniques de bactéries résistantes à un certain nombre d'antibiotiques. L'huile essentielle présentait une activité antibactérienne dose-dépendante, plus prononcée contre les bactéries

Gram positives que Gram négatives. Les bactéries Gram positives telles que *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, d'autres *staphylocoques* à *coagulase négative* et *Streptococcus pyogenes* étaient sensibles, tandis que *Enterococcus faecalis* et *Streptococcus agalactiae* étaient résistants à l'huile essentielle. Toutefois, parmi les bactéries Gram négatif testées, seule *Pseudomonas aeruginosa* était sensible à l'huile essentielle et *Acinetobacter baumannii*, *Vibrio cholerae*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. vulgaris* et *Citrobacter freundii* étaient résistantes. L'effet inhibiteur antibactérien de *N. sativa* contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), comme l'un des pathogènes les plus communs rencontrés dans les milieux cliniques, a été étudié. **L'extrait éthanolique** de la plante à une concentration de 4 mg / disque a montré un effet antibactérien sur toutes les souches testées de SARM, et l'extrait avait une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 200-500 mg/ml. L'utilisation traditionnelle de la plante pour le traitement des infections cutanées a été étudiée. L'effet antibactérien de **l'extrait éthanolique** de graines de *N. sativa* (33%) sur les pustules suite à l'infection cutanée staphylococcique chez 40 nouveau-nés a été comparé à l'effet de la mupirocine. L'étude n'a montré aucune différence significative dans le temps de récupération entre les groupes traités par *N. sativa* et la mupirocine, et l'extrait de plante était aussi efficace que la mupirocine dans le traitement des pustules dans les tissus chez tous les patients (Rafati, 2014). L'effet bactéricide de la thymoquinone (TQ) et son activité inhibitrice du biofilm sur 11 bactéries pathogènes humaines ont été étudiés. La TQ a montré une activité antibactérienne significative contre la plupart des bactéries testées (valeurs CMI) comprises entre 8 et 32 µg/ml, en particulier les bactéries Gram positives *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*. Une étude *in vivo* (57) montrent qu'un **extrait à l'éther** a réussi à éradiquer une infection localisée à *Staphylococcus aureus* chez la souris. Ainsi, les graines de *Nigella sativa* peuvent éventuellement fournir la base d'une préparation antibactérienne efficace pour la chimiothérapie des infections localisées. D'autres applications possibles de *Nigella sativa* sont la conservation des aliments et la prévention des intoxications alimentaires, car certaines des espèces bactériennes inhibées par *Nigella sativa* sont connues pour être impliquées dans une intoxication alimentaire. L'odeur et le goût de l'extrait éther de *Nigella sativa* sont faibles et non désagréables, sinon agréables, ce qui favoriserait son utilisation en alimentaire.

- **Activités antifongiques (58) (59)**

De nombreuses études ont montré l'effet inhibiteur de *N. sativa* sur les levures pathogènes. La candidose causée par les espèces de *Candida* a considérablement augmenté ces dernières années. Parmi les différentes espèces, *Candida albicans* est l'agent le plus responsable d'infections fongiques graves, représentant plus de 90% des cas. Les difficultés associées à la prise en charge des infections à *Candida* nécessitent la découverte de nouveaux agents antifongiques afin d'augmenter le spectre d'activité contre les *Candida* présentant une résistance aux médicaments antifongiques disponibles. Selon la littérature, l'étude de l'activité des produits naturels contre les espèces de *Candida* a augmenté de manière significative au cours des 10 dernières années, en se concentrant sur environ 258 espèces végétales provenant de 94 familles botaniques. Il a été démontré que chez les souris, *Candida albicans* est neutralisée par l'oxyde nitrique (NO) (Fierro et Fidalgo, 1996). Il est possible que l'extrait aqueux de graine de *Nigella sativa* contienne des substances actives qui peuvent stimuler directement les granulocytes et les monocytes pour générer le NO, ce qui conduit à une excellente activité antifongique qui, à son tour, élimine *C. albicans*. L'activité antifongique de l'huile végétale obtenue à partir des graines de Nigelle peut être attribuée à la présence de  $\beta$ -sitostérol et d'acide oléique comme principaux composants de l'huile végétale de *N. sativa* (Asdadi, 2014).

Une étude antérieure a montré que l'acide oléique (acide gras à longue chaîne) a un effet fongistatique contre quelques espèces fongiques comme *Candida*, *Malassezia*, *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* (Ouraini, 2007). De plus, Gupta (2012) ont montré que les composants de l'huile végétale des graines de *N. sativa* tels que le  $\beta$ -sitostérol et le stigmastérol ont une activité antifongique contre les levures pathogènes telles que *Candida tropicalis*, *C. albicans* et *Geotrichum candidum*. Dans une étude de Sitheeqe (2009), tous les polyphénols de la graine noire avaient une activité anti-*Candida* contre toutes les espèces de *Candida* testées telles que *C. albicans* et *C. glabrata*, suivies par *C. parapsilosis*, *C. krusei* et *C. tropicalis*. L'activité anti-levure des quinones telles que la dithymoquinone et la thymohydroquinone de *N. sativa* a été évaluée *in vitro* en utilisant la méthode de microdilution en bouillon avec six espèces de levure provenant d'altération des produits laitiers. On a trouvé que les effets antifongiques des quinones étaient comparables à ceux des conservateurs couramment utilisés dans les produits laitiers (propionate de calcium, natamycine et sorbate de potassium), alors que la thymohydroquinone possédait une activité anti-levure significative (Halamova, 2010). Tel que rapporté par Taha (2010), la concentration

minimale inhibitrice (CMI) du thymol était de 0,5 mg / ml pour *C. albicans*, *Rhodoturula rubra* et les espèces de *Trichosporun*. *R. rubra* était la levure la plus sensible à la thymoquinone (0,1 mg / ml), suivie par *Trichosporum rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. interdigitale* (0,25 mg / ml) et *C. albicans* (la levure résistante). La CMI de la thymohydroquinone était de 0,5 mg / ml pour toutes les levures sauf *R. rubra*, qui était inhibée à 0,25 mg / ml. En général, la thymoquinone est le plus actif des composés de l'huile essentielle de *N. sativa* contre les levures, suivi par la thymohydroquinone et thymol, respectivement. Dans une étude comparative de l'activité antifongique des tanins, des saponines, des alcaloïdes et, de l'huile essentielle, tous les composés de *N. sativa* testés, à l'exception des tanins, ont montré une activité inhibitrice contre *Saccharomyces cerevisiae* (Shohayeb et Halawani,2012). L'un des groupes de champignons les plus importants, responsable d'infections chez l'homme et l'animale dans le monde entier, est celui des dermatophytes. Ils ont la capacité d'envahir des tissus kératinisés tels que les cheveux, la peau et les ongles pour produire une infection, communément appelée dermatophytose (Sidat et al., 2006). Actuellement, il existe de nombreux médicaments antidermatophytiques incluant les imidazoles et la terbinafine en topique, et les triazolés et la griséofulvine pour le traitement systémique de la dermatophytose, qui présentent certains problèmes tels qu'une thérapie systémique prolongée, une résistance fongique, une toxicité élevée et un coût élevé (Martinez-Rossi, 2008). Pour ces raisons, le développement de nouveaux médicaments ou d'une polythérapie pour le traitement de la dermatophytose est urgent. Diverses études ont montré que les extraits de plantes et les composés dérivés de plantes sont efficaces contre la dermatophytose. Plusieurs études ont montré un effet inhibiteur faible à modéré contre un nombre considérable d'isolats cliniques de divers dermatophytes (Khosravi, 2013, Sunita et Meenakshi, 2013, Mahmoudvand, 2014). Tel que rapporté par Taha (2010), le thymol s'est révélé efficace contre *Trichophyton violaceum* (*T. violaceum*) (CMI 0,1 mg / ml), *Microsporum canis* (*M. canis*) (CMI 0,1 mg / ml) et *T. mentagrophytes* (CMI 0,05 mg / ml)). La CMI de la thymoquinone s'est révélée être de 0,05 mg / ml pour les dermatophytes testés. La CMI de la thymohydroquinone s'est révélée être de 0,1 mg / ml pour *M. canis*, alors qu'elle présentait diverses valeurs (de 0,025 à 0,25 mg/ml) pour les isolats de *T. mentagrophytes*. En général, la thymoquinone était plus efficace contre les dermatophytes, suivie par la thymohydroquinone et le thymol, respectivement.

De même, Ali et Blunden (2003) ont indiqué que la plus grande partie de l'activité biologique des graines de *N. sativa* était due à la thymoquinone, le composant majeur de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. Ainsi, une activité anti-

dermatophytique élevée de l'huile de *N. sativa* pourrait être due à une teneur plus élevée en thymoquinone par rapport aux extraits méthanoliques et aqueux, comme décrit précédemment.

Geweely et Alakilli (2012) ont isolée une variété de protéines antifongiques de *N. sativa*. Ces protéines totales avaient une activité antidermatophytique hautement significative sur quatre zoophiles dermatophytes (*M. canis*, *M. equinum*, *T. mentagrophytes* et *T. verrucosum*). Les protéines de *N. sativa* ont eu des effets positifs sur la perméabilité des cellules fongiques de tous les dermatophytes zoophiles. Deux protéines purifiées (Pr1 et Pr2) de *N. sativa* présentaient des activités anti-dermatophytiques, représentant 1,43 fois l'activité des protéines totales. Les résultats mentionnés ci-dessus montrent l'efficacité potentielle de *N. sativa* comme source de substances antidermatophytiques et soutiennent son utilisation en médecine traditionnelle pour le traitement des infections fongiques. Une revue de la bibliographie a montré qu'il n'y a pas assez de recherches sur l'activité antifongique de *N. sativa* contre les champignons non-dermatophytes. Dans une étude menée par Taha et al. (2010), les différents CMI du thymol ont été présentées. Les espèces *Fusarium oxysporum* (*F. oxysporum*) et *Cladosporium* (*C. cladosporioides*) étaient les isolats les plus sensibles, qui étaient inhibés à 0,1 mg / ml, alors que *Aspergillus niger* (*A. niger*) et *Penicillium chrysogenum* (*P. chrysogenum*) étaient les plus résistants, qui étaient inhibés à 0,5 mg / ml. La CMI de la thymoquinone a montré un profil similaire à celui obtenu par le thymol. *F. oxysporum* (CMI 0,1 mg / ml) et *A. niger* (CMI 0,1 mg / ml) ensemble avec *P. chrysogenum* (CMI 0,75 mg / ml) étaient les isolats les plus sensibles et les plus résistants, respectivement. Les espèces de *Cladosporium* ont été inhibées à 0,25 mg / ml. Le même profil obtenu pour le thymol a été également obtenu pour la thymohydroquinone. Les espèces *F. oxysporum* et *Cladosporium* étaient les organismes les plus sensibles à la thymohydroquinone. Les deux ont été inhibés à 0,25 mg / ml. *A. niger* et *P. chrysogenum* étaient les organismes les plus résistants (CMI 0,75 mg / ml). En général, le thymol était le produit chimique le plus efficace contre les champignons filamenteux testés, suivi par la thymoquinone et la thymohydroquinone, respectivement. Dans une autre étude, deux nouvelles défensines antifongiques, à savoir Ns-D1 et Ns-D2, ont été isolées à partir de graines de *N. sativa*. Les deux défensines présentaient une forte activité antifongique divergente vis-à-vis d'un certain nombre de champignons phytopathogènes (Rogozhin, 2011). Le mécanisme est dû à l'interaction attendue des défensines avec des sphingolipides spécifiques sur les membranes fongiques. D'autres études ont montré que *Nigella sativa* était capable d'inhiber la production d'aflatoxines. Les mycotoxines sont des contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale. Cela

concerne notamment les céréales mais aussi les fruits, noix, amandes, pommes et les produits manufacturés issus de ces filières destinées à l'alimentation humaine. Elles sont également présentes dans les grains, fourrages et aliments composés destinés à l'alimentation animale et peuvent être retrouvées dans le lait, les œufs, les viandes ou les abats, si les animaux ont été exposés à une alimentation contaminée par les mycotoxines (Kumar, 2007). Les mycotoxines sont toxiques pour l'homme et les animaux et entraînent des réductions significatives dans le rendement des cultures entraînant une perte économique (Iheshiulor, 2011). L'Organisation des Nations Unies pour l'agriculture (FAO) estime qu'au moins 25% des céréales dans le monde sont contaminées par des mycotoxines comme les aflatoxines (Bathnagar et Garcia, 2001). A côté des agents synthétiques, certaines plantes et leurs métabolites actifs ont été introduits en tant qu'inhibiteurs de la biosynthèse de l'aflatoxine B1 (Rasooli et Razzaghi-Abyaneh, 2004, Yoshinari, 2007, Roze, 2011). À notre connaissance, peu de données ont été rapportées sur l'effet de *N. sativa* contre les champignons producteurs d'aflatoxines. Dans une étude de Khosravi et al. (2011), l'effet de l'huile essentielle de *N. sativa* sur la croissance d'*A. Parasiticus* et la production d'aflatoxines (B1, B2, G1, G2) a été évalué. Les résultats ont indiqué que l'huile essentielle de *N. sativa* (CMI<sub>90</sub>=2,75 mg / ml et MFC (concentration minimal fongicide) =6,25 mg / ml) avait une activité modérée contre *A. parasiticus*. L'huile essentielle de *N. sativa* (1,5 mg / ml) a présenté un pourcentage d'inhibition de la production de mycélium par *A. parasiticus* de 67,4%. En outre, la production d'aflatoxine a été inhibée par 1,5 mg / ml d'huile essentielle de *N. sativa*, représentant des réductions significatives des valeurs de 91,4% pour AFB1 (Aflatoxine B1), 100% pour AFB2 (Aflatoxine B2), 98,5% pour AFG1 (Aflatoxine G1), 87,3% pour AFG2 (Aflatoxine G2) et 96,2% pour les aflatoxines totales. L'huile essentielle a eu un effet plus marqué sur l'aflatoxine B1 par rapport à l'aflatoxine B2. Cette étude a montré que l'importance de l'inhibition de la croissance mycélienne était associée à une diminution des niveaux de production d'aflatoxines. Fait intéressant, la production d'aflatoxines était significativement inhibée à des concentrations inférieures aux concentrations fongistatiques de l'huile.

Dans une étude menée par El-Nagerabi (2012), l'huile essentielle de *N. sativa* à une concentration de 3% inhibait significativement la production d'aflatoxine B1 par *A. flavus* et *A. parasiticus* de 47,9 à 58,3% et de 32 à 48%, respectivement (60). De plus, Al-Ghasham (2008) ont démontré que l'huile essentielle de *N. sativa* réduit l'effet toxique de l'AFB1 dans le foie et les reins des rats atteints d'aflatoxicose, ce qui peut être lié aux propriétés cytoprotectrices et antioxydantes de *Nigella sativa*. Récemment, AbdelWahhab et Aly (2005) ont constaté que l'administration d'huile essentielle de *N. sativa* à des rats nourris avec un

régime contaminé par des aflatoxines (B1, B2, G1) entraînait une protection significative contre ces mycotoxines.

- **Activités antivirales** (61) (62) (63)

Pour étudier l'effet antiviral de **l'huile végétale de *Nigella sativa*** (NSO), des cytomégalovirus murin (MCMV) en tant que modèle ont été utilisés. L'administration intrapéritonéale de NSO à des souris a complètement inhibé les charges virales dans la rate et le foie au troisième jour de l'infection au MCMV (de l'administration intrapéritonéale). La charge virale dans le foie et la rate du témoin présentait une différence élevée par rapport aux souris traitées par NSO,  $45 \times 10^4$  contre  $7 \times 10^4$  et  $23 \times 10^3$  contre  $3 \times 10^3$ , respectivement. Cet effet antiviral est en accord avec l'augmentation du niveau sérique de l'interféron-gamma et l'augmentation du nombre de cellules T auxiliaires CD4<sup>+</sup> (fonction de suppresseur) et le nombre de macrophages. Au dixième jour de l'infection, la charge virale était indétectable dans la rate et le foie des souris traitées à la NSO, alors qu'il était détectable chez les souris témoins. Le traitement *in vivo* avec **l'huile végétale de *N. sativa*** a induit un effet antiviral remarquable contre l'infection par le MCMV. Par des cellules non spécifiques comprenant des cellules tueuses naturelles (cellules NK) et des cellules spécifiques comprenant des lymphocytes T CD4 et CD8, l'immunité adaptative engendrée suite à l'infection virale est contrôlée. L'effet antiviral de NSO est lié à l'augmentation de la réponse des cellules CD4. Dans une étude (64), un patient infecté par le virus de l'hépatite C (VHC) qui n'était pas admissible au traitement par l'IFN- $\alpha$ , avait reçu une capsule de NSO (450 mg) trois fois par jour pendant trois mois consécutifs, et les résultats ont montré une diminution de la charge virale et également une amélioration du stress oxydatif en raison de l'augmentation de l'activité anti-oxydante totale, de la protidémie et de l'albuminémie, de l'augmentation du nombre de globules rouges et de plaquettes chez les patients infectés par le VHC. Une étude menée en Turquie en 2016 avait pour objectif de déterminer les effets possibles de la graine *Nigella sativa* (NS) sur la réponse immunitaire et la pathogénèse du virus de la grippe aviaire H9N2 chez les dindes. L'expérience a été réalisée sur 150 dindes non vaccinées, divisées en cinq groupes expérimentaux de 30 oiseaux chacun. Le groupe A est le groupe non infecté et est un témoin négatif non traité tandis que le groupe B est le groupe témoin positif infecté et non traité. Les dindes des groupes A et B recevaient des aliments sans NS tandis que les dindes des groupes C, D et E recevaient des régimes alimentaires contenant respectivement 2%, 4% et 6% de graines NS, du premier jour à la totalité de la période expérimentale. Tous

les groupes ont été exposés au virus H9N2 à la 4<sup>ème</sup> semaine sauf le groupe A. Les dindes infectées présentaient des signes cliniques (dépression, diminution de la prise alimentaire, éternuements, bruits respiratoires, écoulement oculaire / nasal, gonflement de la tête, mortalité, modification poids corporel moyen) de sévérité différente, les signes cliniques les plus importants étant observé chez les dindes du groupe B. Toutes les dindes infectées (groupe B, C, D, E) présentaient des résultats positifs pour l'excrétion virale; cependant, le profil d'excrétion virale était différent. En effet, les dindes du groupe B présentaient une sécrétion virale prononcée par rapport aux dindes des autres groupes recevant différents niveaux de NS. De plus, un titre d'anticorps plus élevé contre H9N2 chez des dindes nourries avec 6% de graines NS montre la nature immunomodulatrice de NS. De même, l'expression accrue de gènes codant pour des cytokines suggère un comportement antiviral de NS particulièrement en fonction de la dose, conduisant à une pathogénèse supprimée des virus H9N2. Cependant, la réduction de l'excrétion du virus et l'amélioration des réponses immunitaires étaient plus prononcées chez les dindes ayant reçu NS à raison de 4% et 6%. Cette étude a montré qu'un supplément de NS améliorerait significativement la réponse immunitaire et supprimerait la pathogénicité des virus grippaux chez les dindes (65).

- **Activités antiparasitaires (66) (67)**

Une étude a été menée en 2014 sur l'effet sur l'ultrastructure des trophozoïtes de *Trichomonas vaginalis* de préparation à base de *Nigella sativa*. Dans la présente étude, les graines de *Nigella sativa* et l'huile essentielle ont été achetées dans un marché local en Inde. L'huile NsO a été diluée dans un milieu d'incubation pour obtenir une concentration à 500 ug/ml. Les graines de *Nigella sativa* ont été lavées puis séchées à l'air libre. 250 g de graines ont été pulvérisés et mis en contact avec une solution hydro-méthanolique à 85% de méthanol et mis à macérer pendant 24 heures à 40°C. L'extrait obtenu est filtré sur Büchner. Le résidu végétal est ré-extrait à nouveau en utilisant la même technique avec 50% de méthanol pendant 2 h supplémentaires. Après filtration, les deux extraits liquides sont combinés et concentrés sous pression réduite avec évaporateur rotatif à 40° C jusqu'à ce que la plus grande partie du méthanol ait été éliminée (ce qui correspond à NsCr). Cet extrait a ensuite été dilué dans le milieu d'incubation à la concentration de 1 mg / ml. Les trophozoïtes de *T. vaginalis* ont été incubés avec NsO et NsCr pendant 24 et 48 h.

*Trichomonase vaginalis* est l'agent étiologique de la trichomonase, protozoaire parasitaire qui colonise le tractus urogénital mâle et femelle. Une cellule typique de *T. vaginalis*, cultivée en milieu axénique, est caractérisée par une forme assez circulaire, quatre flagelles antérieurs et un flagelle récurrent collé au corps cellulaire qui se trouve vers la région postérieure de la cellule, formant une membrane ondulante. Par microscopie électronique MET, on peut voir un noyau, des hydrogénosomes, un axostyle qui longe le parasite, le cytoplasme, une variété de vacuoles (y compris des lysosomes) et de nombreux micro-tubules de structures variées. Le métronidazole MTZ est le médicament de choix recommandé pour le traitement de la trichomonase humaine (Fernando, 2007). Cependant, il peut exister une résistance aux médicaments et un risque potentiel de mutagenèse et de cancérogénicité (Organisation mondiale de la Santé, 2001). La visualisation au microscope électronique a révélé que les trophozoïtes de *T. vaginalis* traités au MTZ (1 et 3 µg/ml, pendant 48 h) sont gonflés et présentent de nombreuses altérations ; une redistribution des vacuoles pinocytosiques et phagocytaires, avec de grandes zones vides dans le cytoplasme, et la rupture de la membrane plasmique. L'extrait NsCr et l'huile essentielle de *N. sativa* se sont avérés avoir de nombreux effets thérapeutiques (Salem, 2005). En effet, il a été démontré qu'il exerçait un effet anti-toxoplasmique et antipaludéen car il diminuait significativement la parasitémie et augmentait les temps de survie des souris infectées par *Plasmodium berghei* (Abdulelah et Zainal-Abidin 2007). L'huile essentielle de *Nigella sativa* s'est révélée protéger et prévenir les dommages du foie induits par l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris en modulant la réponse immunitaire et en réduisant l'inflammation (Mahmoud, 2002). Le but de cette étude est d'étudier le potentiel thérapeutique de l'extrait hydro-méthanolique et de l'huile essentielle de *N. sativa* et leur activité sur l'ultrastructure de *T. vaginalis* par rapport au MTZ, tel que détecté par MET. Des études par MET ont été réalisées sur des trophozoïtes après une exposition in vitro à NsO et NsCr pendant 24 et 48 h. Les observations par microscope électronique ont montré une ultrastructure normale dans les préparations témoins, montrant une membrane cellulaire intacte, une membrane ondulante, des flagelles et un noyau. Après 24 h d'incubation avec l'extrait alcoolique de *N. sativa*, les trophozoïtes de *T. vaginalis* montrent un gonflement cellulaire avec destruction modérée, la membrane cellulaire est encore intacte à l'exception de quelques défauts, pas de membrane ondulante ou de flagelles mais une petite partie de l'axostyle est encore préservée et les vacuoles sont encore de petite taille. Après 48 h d'incubation, les trophozoïtes montrent une destruction cytoplasmique et nucléaire sévère avec de grandes cavités, la membrane cellulaire est partiellement détruite. L'huile essentielle de *Nigella sativa* a provoqué des changements ultrastructuraux similaires chez les

trophozoïtes de *T. vaginalis*. Après 24 h d'incubation avec NsO, les trophozoïtes montrent un gonflement cellulaire avec destruction modérée, la membrane cellulaire est partiellement détruite avec de nombreux défauts. De nombreuses vacuoles sont trouvées, dont la taille et le nombre sont supérieures à ceux trouvés après incubation avec l'extrait alcoolique de *N. sativa*. De plus, il existe une destruction nucléaire mais une partie de l'axostyle est encore préservée. Pas de membrane ou de flagelles ondulants. Après 48 h d'incubation avec l'extrait NsO, les trophozoïtes de *T. vaginalis* montrent des dommages cellulaires graves, le cytoplasme et le noyau sont sévèrement détruits avec de grandes cavités. La membrane cellulaire est complètement détruite. L'effet remarquable de NsO peut être attribué au fait que cet extrait a une teneur élevée en acides gras polyinsaturés, dont le principal composant est l'acide linoléique (60,0-61,7%) (Edris, 2011), suivi par l'acide oléique et palmitique. De nombreuses autres études ont prouvé l'activité nématocide de NsO comme celle réalisée par Shalaby et El-Moghazy (2013) sur le ver adulte de *Toxocara vitulorum* où NsO a provoqué une désorganisation étendue et sévère de la cuticule et de la musculature du corps. Abu El Ezz (2005) a observé que l'extrait NsO avait un effet antihelminthique chez les rats infectés par *Trichinella spiralis* et qu'il augmentait la production d'anticorps générés au cours du cycle de vie de ce parasite. De plus, Ayaz (2007) ont constaté que NsO a un effet antiparasitaire contre *Hymenolepis nana* en stimulant le système immunitaire. Les altérations ultrastructurales des trophozoïtes de *T. vaginalis* observées dans le présent travail fournissent donc une preuve évidente de l'effet toxique de l'extrait NsO, dans une moindre mesure, de l'extrait alcoolique de *N. sativa*, qui pourrait offrir une alternative efficace, moins chère et plus sûre au MTZ.

#### e) **Activités antidiabétiques** (68) (69)

Le diabète sucré est l'une des pathologies les plus courantes. C'est un trouble endocrinien majeur parmi les facteurs de risque cliniques les plus importants impliqués dans plusieurs pathologies y compris l'athérosclérose, les neuropathies, les néphropathies, les rétinopathies et les accidents vasculaires cérébraux. Les troubles métaboliques résultants sont caractérisés par une hyperglycémie provoquée par une perturbation de la sécrétion d'insuline et / ou de l'action de l'insuline et un métabolisme altéré des lipides, des glucides et des protéines. En raison de sa forte prévalence (6,4% de la population (soit 285 millions de personnes), avec une augmentation attendue de la population adulte d'ici 2030 estimée à 370 millions selon l'Organisation Mondiale de la Santé) et son impact physique, psychologique et social, le diabète est considéré comme une préoccupation médicale majeure. Parmi tous les types de

diabète, le diabète de type 2 est le plus compliqué. Généralement, les stratégies thérapeutiques actuelles pour ce type de diabète sont limitées et impliquent l'insuline et quatre classes principales d'antidiabétiques oraux qui stimulent la sécrétion d'insuline pancréatique (sulfonylurées et sécrétagogues à action rapide / insulinothromotropes), réduisent la production de glucose hépatique (biguanides), retardent la digestion et l'absorption de glucose au niveau intestinal (inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase), ou améliorent l'action de l'insuline (thiazolidinediones (TZDs)). Chacune des molécules ci-dessus présente généralement une efficacité modérée voir insuffisante et un certain nombre d'effets indésirables graves.

Par conséquent, il est nécessaire de développer des modalités de traitement sûres et efficaces pour le diabète. À cet égard, les plantes sont spécifiquement des réservoirs de composés bioactifs car elles synthétisent des molécules organiques complexes par leurs structures et leurs fonctions, de sorte que les plantes médicinales deviennent une composante importante de la tendance vers les médecines alternatives. Une étude a été menée en 2017 sur l'effet antidiabétique d'un extrait aqueux de *Nigella sativa* (AqE.NS). L'extraction aqueuse a été réalisée à chaud de la manière suivante : 150 g de poudre de graine noire a été mélangé avec 500 ml d'eau et extraite sous agitation magnétique pendant 12 h à 95 ° C. Au bout de 12 heures, l'extrait a été filtré à travers une mousseline et le filtrat a été récupéré, transféré et laissé à 90 ° C pendant 8 h jusqu'à l'obtention d'un extrait pâteux qui a été conservé à 4 ° C avant utilisation. Le rendement d'extraction est en moyenne de 24%. Dans cette étude 3 groupes de 5 rats ont été constitués : un groupe témoin de rats sains « non alloxane » (ALX) et non traités, un groupe de rats témoins diabétiques ou de modèles diabétiques (DM), et un groupe de rats diabétiques traités avec un extrait aqueux de *Nigella sativa* (DNS) à une dose de 2 g / kg. L'effet antidiabétique a été étudié pendant 8 semaines par gavage quotidien à l'aide d'une sonde œsophagienne. Le diabète a été provoqué chez le rat par une seule injection intrapéritonéale d'ALX à une concentration de 200 mg/kg dans les groupes DM et DNS et a perturbé le métabolisme des glucides, se manifestant par une hyperglycémie, une diminution de l'insulinémie, une diminution du glycogène dans le foie et une perturbation du métabolisme lipidique avec une augmentation des LDL-c ainsi que les lipides totaux et les triglycérides dans le foie. L'ALX agit par une action cytotoxique sur les cellules  $\beta$  pancréatiques médiée par la production de radicaux libres et par la perturbation de l'homéostasie  $Ca^{2+}$  cytosolique libre des cellules  $\beta$  de Langerhans, générant ainsi une déficience en sécrétion d'insuline plutôt qu'une résistance à l'insuline. Les animaux présentent alors une hyperglycémie sévère, une glycosurie, une hyperlipidémie avec

une polyphagie, une polydipsie et divers autres symptômes de diabète non contrôlé. L'administration orale de 2 g/kg d'AqE.NS aux animaux diabétiques a augmenté le poids des animaux du groupe DNS au cours du dernier mois de traitement, ce qui pourrait s'expliquer par l'augmentation de la lipogenèse comme signe d'augmentation de la sécrétion d'insuline. Le traitement avec AqE.NS montre également un retour progressif à l'euglycémie, suivie d'une augmentation de l'insuline, en accord avec les résultats de Kanter et ceux de Benhaddou-Andaloussi qui ont démontré *in vitro* que l'extrait AqE.NS de *N. sativa* améliorerait la prolifération des cellules  $\beta$  et augmentait la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose, atténuant ainsi la progression du diabète.

Le profil lipidique des animaux diabétiques étudiés a été illustré par une augmentation des TG, du cholestérol total et du LDL-c, en accord avec les résultats déjà avancés par Al-Logmani et Zari sur des rats diabétiques induits par la streptozotocine STZ et traités par l'huile végétale *Nigella Sativa*, et la diminution significative de ces mêmes paramètres lipidique observée après l'administration de AqE.NS suivie de l'augmentation de HDL-c, qui est également en accord avec les résultats d'autres auteurs. En effet, Fararh a observé une diminution significative des taux sériques de triglycérides (TG) chez les rats diabétiques traités par la thymoquinone (TQ), Asgary a rapporté que *Nigella Sativa* (NS) a significativement diminué la quantité de lipoprotéines de basse densité (LDL), et Zaoui a pour sa part quantifié la diminution du taux de cholestérol sérique chez les rats normaux à 15,5% et les niveaux de TG à 22%. Le retour à l'euglycémie pourrait s'expliquer par une augmentation de la synthèse et de la translocation de GLUT-4 (transporteur du glucose) dans le muscle contribuant à la réduction de l'hyperglycémie. En effet, Benhaddou-Andaloussi rapporte que NS stimule *in vitro* la phosphorylation de l'Acétyl-CoA Carboxylase (ACC), un substrat de la lipogenèse, via la voie de signalisation de l'AMP kinase, dans le muscle squelettique, et *in vivo*, il stimule également la phosphorylation de l'ACC musculaire et hépatique et l'expression du transporteur GLUT-4 dans le muscle. L'effet hypoglycémique peut également s'expliquer par une réduction de la néoglucogénèse dans le foie selon Fararh ou, comme le montrent cette étude, par une amélioration de la glycogénogénèse. Bien que les voies de cet effet hypolipémiant observé n'aient pas encore été élucidées, de nombreuses hypothèses sont néanmoins avancées, comme l'action de certains composants de NS comme la thymoquinone (TQ) qui, *in vitro*, régule les gènes impliqués dans le métabolisme du cholestérol ou l'amélioration de l'expressions des gènes PPAR- $\alpha$  / RXR  $\alpha$  évoquées par Haas dans son étude *in vitro* des hépatocytes HepG2 et des cellules intestinales Caco-2, où des extraits de NS

augmentaient la sécrétion d'apolipoprotéine A1. De même, 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 contribuant à la réduction du taux de cholestérol sérique représentent également des mécanismes expliquant l'effet hypolipémiant de la plante. En effet, cet effet hypolipémiant obtenu dans les études précitées avec divers extraits, huile essentielle ou TQ, ne semble pas être dû à un seul composant mais plutôt à l'action synergique des différents composants de *Nigella sativa*, comme la thymoquinone, ses divers stérols, ses flavonoïdes et sa richesse en acides gras polyinsaturés. L'augmentation de HDL-c favorise un plus grand flux de cholestérol par les cellules périphériques, en particulier les cellules vasculaires, alors que la diminution du LDL-c semble indiquer une diminution du transport du cholestérol vers les cellules périphériques ou une moindre synthèse des VLDL hépatiques, montrant ainsi ses propriétés anti-athérogènes et cardioprotectrices, justifiant la diminution observée des lipides et des triglycérides dans le tissu hépatique. De plus, de nombreux auteurs ont démontré un stress oxydatif dans le diabète de types 1 et 2. Par conséquent, l'hyperglycémie chronique dans le diabète sucré (type 1 et 2) conduit à un stress oxydatif créé par un déséquilibre entre les composants pro-oxydants et anti-oxydants. Ceci favorise les réactions de glycation. Ceux-ci participent également au développement du stress oxydatif et du processus inflammatoire. Une oxydation accrue des cibles cellulaires et/ou une diminution des systèmes de défense antioxydants ont ainsi été observées chez l'homme. L'effet antioxydant a été évaluée par la détermination du taux de production de malondialdéhyde MDA, produit final de la peroxydation des acides gras qui réagit avec le TBA (acide thiobarbiturique) pour former les TBARS (thiobarbiturique substances réactives). Les résultats des TBARS obtenus après traitement étaient en faveur d'un effet antioxydant de NS, rejoignant les résultats de Leong qui a rapporté une réduction du niveau de MDA chez le rat après administration de TQ. Les résultats ont également montré une augmentation des TBARS dans le foie (13,7%), le tissu adipeux (32,25%) et le pancréas (30,66%). Mansi rapporte que le pancréas est un organe cible de l'ALX qui a une action cytotoxique par l'intermédiaire de ROS, puisque l'alloxane et l'acide dialurique, produit de sa réduction, induit la formation de radicaux supéroxydes et provoque alors des dommages à l'ADN, ce qui stimule la poly ADP-ribosylation, un processus participant à la réparation de l'ADN. A la huitième semaine de traitement, AqE.NS a abaissé le taux de TBARS hépatique rejoignant ainsi la concentration observée dans le groupe témoin. Ceci a montré une diminution de l'effet hépatotoxique de l'alloxane par cet extrait. La même diminution a également été observée pour les TBARS pancréatique. Ces effets protecteurs peuvent être attribués aux propriétés

antioxydantes de l'extrait aqueux de *N.sativa*, qui inhibait la peroxydation lipidique. Ces résultats sont en accord avec ceux d'Abdelmeguid qui a trouvé, chez des rats traités avec un extrait aqueux et la TQ, une diminution significative des TBARS pancréatiques avec régénération partielle des cellules  $\beta$  des îlots Langerhans, en spécifiant que, l'extrait aqueux a empêché la vacuolisation cytoplasmique et la fragmentation des mitochondries et a augmenté la sécrétion d'insuline.

**Tableau H : Effet de l'AqE.NS (2 g / kg) après induction du diabète avec l'alloxane**

	T0	W3	W4t	W5t
Glycémie (mg/dL)				
C	96.39±5.95	81.75±6.95	96.75±4.7	104.75±3.97
DM	120.23±11.56	153.81±7.6	259.55±4.82	258.33±42.31
DNS	97.72±13.76	150.07±7.67	107.17±6.02	106±4.24

**Légende :**

C : Groupe témoin

DM : Modèle de rats diabétiques

DNS : Rats diabétiques traités avec 2 g de poids corporel AqE.NS / kg

T0 : Heure initiale de l'expérience

W3 : 3 semaines après l'injection d'alloxane

W1t-W8t : semaines de traitement par AqE.NS après induction du diabète

**f) Activités cardiovasculaires**

• **Action antihypertensive direct (70) (71)**

Selon le septième rapport du Comité national mixte sur la prévention, la détection, l'évaluation et le traitement de l'hypertension artérielle, l'hypertension est diagnostiquée comme une tension artérielle systolique supérieure à 140 mmHg et / ou une tension artérielle diastolique supérieure à 90 mmHg. L'influence familiale et les facteurs environnementaux comme l'obésité, la sédentaire contribuent à la forte prévalence de l'hypertension. En 2000, on estimait qu'environ 972 millions d'adultes dans le monde souffraient d'hypertension. Ce chiffre passera à 1,56 milliard d'ici 2025. Au cours des dernières années, il y a eu un intérêt croissant et une demande pour l'utilisation de plantes médicinales pour le traitement et la

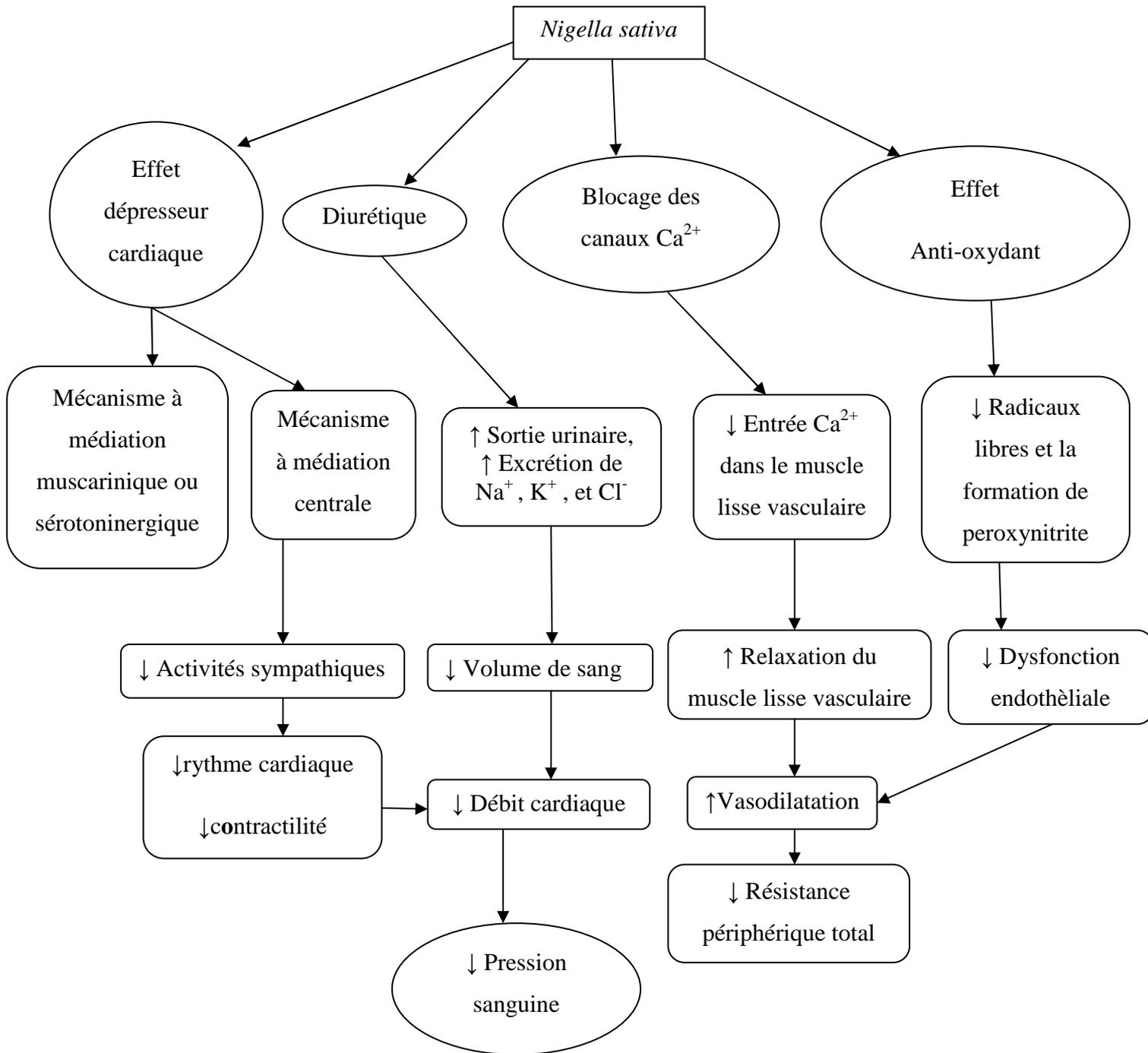
prévention de diverses maladies, y compris les maladies cardio-vasculaires. Les effets antihypertenseurs de *Nigella Sativa* (NS) relèvent de plusieurs mécanismes impliqués dans la réduction de la pression artérielle (PA), le blocage des canaux calciques, et l'effet diurétique.

Le tableau I résume les effets de NS et de ses composés sur la pression sanguine. Des études antérieures ont rapporté que l'huile essentielle de *Nigella sativa* et la thymoquinone diminuaient à la fois la tension artérielle et la fréquence cardiaque. Les effets de NS sur la PA et la fréquence cardiaque ont été inversés par la cyproheptadine (un inhibiteur non sélectif des récepteurs de la sérotonine) et l'atropine (agent antimuscarinique M2). Cette observation suggère que les effets protecteurs de *Nigella Sativa* étaient principalement médiés via des mécanismes impliquant des récepteurs sérotoninergiques et muscariniques (au niveau SNC principalement). En revanche, El-Tahir a documenté que dans l'huile essentielle de NS sans thymoquinone, l' $\alpha$ -pinène et le p-cymène réduisaient la TA et la fréquence cardiaque. Cependant, l'effet hypotenseur de la *Nigella Sativa* n'a pas été inversé par l'atropine ou la cyproheptadine, bien que ces deux médicaments aient antagonisé l'effet de la NS sur la fréquence cardiaque. Les effets dépresseurs cardiaques de NS (NS=*Nigella sativa*) observés chez le rat ont été significativement inversés par l'hexaméthonium (un bloqueur ganglionnaire qui agit comme un antagoniste des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine situés dans les ganglions sympathiques et parasympathiques) suggérant un mécanisme impliquant des récepteurs nicotiques. En outre, la destruction de la connexion entre le centre vasomoteur dans la moelle et le système sympathique préganglionnaire par section de la moelle épinière chez le rat empêche les changements cardiovasculaires induits par NS. L'absence d'action de l'indométhacine (inhibiteur de la prostaglandine cyclooxygénase), de la mépacrine et de l'hydrocortisone (inhibiteur de la phospholipase A2), de la mépyramine (antagoniste des récepteurs H1), de la ranitidine (antagoniste des récepteurs H2 de l'histamine) et du bleu de méthylène (antagoniste de la formation NO-GMPc) sur les effets dépresseurs cardiovasculaires de NS, suggèrent un manque ou une absence d'implication du système inflammatoire (eicosanoïde), du système histaminergique, du facteur d'activation des plaquettes (PAF) et des mécanismes induits par le NO dans l'activité anti-hypertensive de *Nigella sativa*.

Le thymol, un autre composé actif de NS, a été documenté pour être capable de réduire la pression sanguine par son action sur les canaux ioniques de  $Ca^{2+}$ . Peixoto-Neves a rapporté que le thymol produit une vasodilatation dose-dépendante dans l'aorte du rat. En effet, la

relaxation indépendante de l'endothélium induite par NS peut être médiée par des mécanismes impliquant l'inhibition de la libération de  $\text{Ca}^{2+}$  du réticulum sarcoplasmique, une sensibilité réduite du  $\text{Ca}^{2+}$  du système contractile et/ou un blocage de l'influx  $\text{Ca}^{2+}$  à travers la membrane. Le thymol entraîne une action inotrope négative, dose-dépendante, sur des préparations cardiaques isolées à la fois de chiens et de cobayes. L'effet observé peut être dû à une diminution de la teneur en  $\text{Ca}^{2+}$  dans le réticulum sarcoplasmique via l'inhibition du canal calcique. L'effet du thymol sur le courant  $\text{Ca}^{2+}$  dans les cardiomyocytes ventriculaires humains et canins a été étudié. En effet, Magyar a démontré que le thymol inhibe le courant  $\text{Ca}^{2+}$  de type L d'une manière dépendante de la dose. Lorsque les canaux  $\text{Ca}^{2+}$  sont bloqués, l'entrée de  $\text{Ca}^{2+}$  dans les muscles lisses vasculaires est réduite, menant finalement à une augmentation de la vasorelaxation. Par ailleurs, le rein joue un rôle vital dans le contrôle de la pression sanguine et dans la pathogenèse de l'hypertension. Zaoui (72) a rapporté dans un article en 2002 que 0,6 ml / kg d'extrait hexanique de NS (obtenu par choc à froid de graines en poudre dans (3 x 1,5) litres d'hexane trois fois en 24 heures, le solvant a été éliminé de l'extrait sous pression réduite) pendant 15 jours provoquait une augmentation de 16% de la diurèse chez les sujets hypertendus. L'effet diurétique de NS était comparable à 5 mg / kg de furosémide qui est un diurétique. L'effet diurétique était associé à une augmentation de l'excrétion urinaire de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  et urée. Ceci suggère que NS peut diminuer la pression sanguine via son action diurétique. Une réduction des électrolytes et de la teneur en eau entraînant une diminution du volume sanguin, ce qui réduit par la suite le débit cardiaque, est l'un des principaux déterminants de la régulation de la pression artérielle. Dans une autre étude, l'extrait de NS a également montré des résultats similaires avec une augmentation du débit de filtration glomérulaire, de la production d'urine et d'électrolytes. Les systèmes rénine-angiotensine-aldostérone (RAA) peuvent contribuer à réguler la pression artérielle en contrôlant le volume sanguin et la résistance vasculaire périphérique. Cependant, les effets observés de l'extrait NS n'ont pas d'influence sur l'enzyme de conversion plasmatiques ni sur l'activité de la rénine chez les sujets hypertendus après 20 jours de traitement.

Par conséquent, l'action antihypertensive de NS semble être indépendante du système rénine-angiotensine-aldostérone. Néanmoins, d'autres études doivent être effectuées pour évaluer cette hypothèse.



**Figure 17 : les effets de NS et de ses composés actifs sur la pression sanguine**

- **Action sur l'hyperlipidémie (73) (74)**

Une étude a été menée en 2014 sur les effets de la poudre de graines de *N. sativa* sur le cholestérol sérique, HDLc, LDLc et les triglycérides chez les femmes ménopausées pour une

éventuelle activité hypolipidémique. L'incidence des maladies cardiovasculaires (MCV) augmente significativement chez les femmes lorsqu'elles atteignent la ménopause. De plus, les MCV continuent de causer une morbidité et une mortalité significatives chez ces femmes. En fait, l'incidence des maladies cardiovasculaires est plus élevée chez les femmes ménopausées que chez les femmes non ménopausées et les hommes d'âge similaire. Selon les prévisions, les maladies cardiovasculaires resteront la principale cause de décès dans le monde et d'ici 2020, près de 23,6 millions de personnes mourront de maladies cardiovasculaires, en particulier les cardiopathies et les accidents vasculaires cérébraux. L'augmentation du risque de MCV chez les femmes ménopausées est principalement due à la privation d'œstrogènes, qui affecte directement les facteurs de risque de MCV tels que la dyslipidémie, le diabète sucré, le surpoids ou l'hypertension au moment de la ménopause. La dyslipidémie survient à la suite de profils lipidiques sanguins anormaux, notamment ceux des lipoprotéines de haute densité (HDL), des lipoprotéines de basse densité (LDL) et des triglycérides (TG) et reste l'un des facteurs les plus importants responsables de l'augmentation du risque de MCV chez les femmes ménopausées. En Malaisie, les maladies cardiovasculaires représentent 25% de tous les décès survenus en 2008 et la dyslipidémie seule ou associée à une hypertension ou au diabète ont été les principaux facteurs responsables. Bien que ce soit une transition physiologique chez une femme, la ménopause s'accompagne de problèmes et, par conséquent, les femmes de cet âge doivent être prises en charge de manière appropriée pour tous les risques ou problèmes de santé (maladie cardio-vasculaire, dépression, ostéoporose, diabète sucré...) afin d'assurer une vie épanouissante. De nos jours, il y a une demande croissante pour les produits à base de plantes dans la gestion des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, au lieu de médicaments de synthèse, pour éviter les effets secondaires.

Dans cette étude trente-sept femmes ménopausées (n= 37) depuis au moins 12 mois, dans la tranche d'âge de 45-60 ans et qui présentaient un risque modéré d'hyperlipidémie ont été choisies comme « répondants ». Les « répondants » étaient des femmes non-fumeurs, ne consommant pas d'alcool et qui n'avaient aucun antécédent de maladie chronique et ne suivant pas de traitement de Phytothérapie. Ces sujets sélectionnés ont été randomisés en 2 groupes (traitement et placebo) comme suit: un groupe de traitement recevant des gélules contenant 500 mg poudre de graines de *N. sativa* (n = 19), tandis que le groupe placebo (n =18) a reçu les gélules placebo contenant du germe de blé. Les gélules de poudre de *N. sativa* ont été

administrées par voie orale à la dose de 1 g, soit 2 gélules/jour, après le petit déjeuner, tous les jours, pendant une période de deux mois.

Les résultats de la présente étude ont montré une diminution significative de l'hyperlipidémie chez les femmes ménopausées après un traitement avec *N. Sativa*, par rapport au groupe placebo. Les résultats ont également indiqué une tendance de *N. sativa* à améliorer la glycémie et la pression artérielle mieux que le placebo. Le taux de cholestérol (TC) moyen des sujets du groupe *N. sativa* s'est significativement améliorée de 16,09% à deux mois de traitement par rapport au départ et il est significativement plus élevé que dans le groupe placebo. Une tendance similaire de réduction des taux de TG (22,16%) par rapport aux taux de TC a été observée dans le groupe traité qui était significativement plus élevé que pour le groupe placebo. La réduction du LDL<sub>c</sub> était de 26,67% avec des changements significatifs, chez le groupe traité par rapport au groupe placebo. L'amélioration de LDL<sub>c</sub> au cours de la période de traitement étaient significativement plus élevés, dans le groupe *N. sativa* par rapport au groupe placebo. Dans l'ensemble, les améliorations du profil lipidique (TC, TG et LDL<sub>c</sub>) pendant la période de traitement étaient significativement plus élevées, dans le groupe *N. sativa* comparativement au groupe placebo, à l'exception des niveaux de HDL<sub>c</sub>, similaire à celui observé pour le groupe placebo. Ces résultats sont conformes à ceux d'Inayat (2009), qui a rapporté que le traitement par voie orale avec de la poudre de *N. sativa* chez des patients hypercholestérolémiques à la dose de 1 g par jour pendant deux mois réduisait les TC, LDL et TG, et augmentait le HDL. En outre, TC, LDL et TG ont été réduits de façon significative après 6 mois de traitement avec de la poudre de *N. sativa* (500 mg) et de l'atorvastatine chez des patients cardiaques comparé au groupe placebo recevant seulement la statine (65). Dans une autre étude de 8 semaines à l'hôpital Chamran (Ispahan, Iran), il a été suggéré que le traitement avec un extrait méthanolique de graines de *N. sativa* par voie orale chez des patients masculins présentant une hyperlipidémie et une hypertension modérées a provoqué une baisse dose-dépendante significative des taux de TC, TG et LDL par rapport aux données de base. Les effets hypolipémiants de la poudre de graines de *N. sativa* ne semblent pas être dus à un seul composant, mais plutôt à l'action synergique de ses différents constituants y compris la thymoquinone (TQ), la nigellamine, les fibres solubles (mucilage), les stérols, les flavonoïdes et la teneur élevée en acides gras polyinsaturés (AGPI). De plus, dans une étude précédente, il a été démontré que la TQ en combinaison avec d'autres composés bioactifs dans une formulation appelée « fraction riche en TQ » produit une meilleure régulation de la synthèse du cholestérol. Des mécanismes d'action multiples peuvent en effet contribuer aux

effets hypolipémiants de *N. sativa*. Plus tôt, il a été démontré que *N. sativa* était capable de réguler la synthèse du cholestérol par la régulation des gènes codant pour l'HMG-CoA réductase, Apo-A1, Apo-B100 et LDL, un effet médié par TQ et d'autres constituants de *N. sativa*. En fait, cette étude a démontré que la TQ en combinaison avec d'autres composés bioactifs présente une meilleure régulation de la synthèse du cholestérol que la TQ seule, suggérant que la synergie des composés augmente les effets hypocholestérolémiants de *N. sativa*. En plus du contrôle de la synthèse du cholestérol, nous avons démontré, d'autres mécanismes de l'action hypolipémiante de la TQ et d'autres composés actif (flavonoïdes, stérols, fibres...). En effet, la TQ a inhibé la peroxydation lipidique non enzymatique dans les liposomes et agit comme piègeur de diverses espèces réactives de l'oxygène, notamment l'anion superoxyde et les radicaux hydroxyles. Les antioxydants peuvent également contribuer en partie aux effets fonctionnels globaux de *N. sativa*. En particulier, des antioxydants (flavonoïdes) ont été proposés pour diminuer la synthèse du cholestérol et supprimer les espèces réactives de l'oxygène, et diminuer la formation d'espèces azotées. Les flavonoïdes de *N. sativa* sont capables d'améliorer l'efficacité des cellules hépatiques pour éliminer les LDL de la circulation sanguine en augmentant les densités de récepteurs LDL dans le foie et en se liant à l'apolipoprotéine B. Les effets hypolipémiants des fibres alimentaires solubles et des stérols chez *N. sativa* pourraient également contribuer à une diminution de l'absorption du cholestérol alimentaire, et à l'augmentation de la synthèse de la bile primaire. D'autre part, une teneur élevée en AGPI (acides gras polyinsaturés) dans *N. sativa* peut également entraîner une diminution du TC sérique.

La TC moyenne des sujets du groupe *N. sativa* s'est significativement améliorée,  $p < 0,05$ , de 16,09% à deux mois de traitement par rapport au départ et significativement plus élevée,  $p < 0,05$ , que dans le groupe placebo. Une tendance similaire de réduction des taux de TG (22,16%) par rapport aux taux de TC a été observée avec un traitement de deux mois avec des graines de *N. sativa* en poudre qui était significativement plus élevé,  $p < 0,05$ , que le groupe placebo. La réduction du LDL<sub>C</sub> était de 26,67% avec des changements significatifs,  $p < 0,05$  avec deux mois de traitement de la poudre de graines de *N. sativa* par rapport au départ. Encore une fois, les améliorations de LDL<sub>C</sub> au cours de la période de traitement étaient significativement plus élevées,  $p < 0,05$  dans le groupe *N. sativa* par rapport au groupe placebo. Dans l'ensemble, les améliorations du profil lipidique (TC, TG et LDL<sub>C</sub>) pendant la période de traitement étaient significativement plus élevées,  $p < 0,05$  dans le groupe *N. sativa*

comparativement au groupe placebo, à l'exception des niveaux de HDL<sub>C</sub>, similaire à celui produit par placebo.

### **g) Activités gastro-intestinales, rénales**

- **Activités hépatoprotectrices (75) (76)**

Le foie est un organe polyvalent du corps qui contrôle l'environnement chimique interne. Il gère le métabolisme et l'excrétion des médicaments et autres xénobiotiques, offrant ainsi une protection contre les xénobiotiques par des actions de détoxification et d'élimination. Le foie élimine les molécules par oxydation, réduction et/ou conjugaison. Une lésion ou un dysfonctionnement hépatique est un problème de santé grave qui peut être produit par des produits chimiques toxiques, des médicaments, des virus et des parasites par ingestion ou infection. L'exposition à divers polluants environnementaux et xénobiotiques tels que l'alcool, le paracétamol, (le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>), le thioacétamide) sont la principale cause des troubles hépatiques, qui endommagent le foie en produisant des espèces réactives de l'oxygène qui sont extrêmement toxiques et produisent des lésions tissulaires. Le tétrachlorure de carbone est hépatotoxique et a été couramment utilisé pour générer des lésions hépatiques chez le rat dans de nombreuses études. Dans les hépatocytes, CCl<sub>4</sub> est métabolisé par le cytochrome P450 pour produire les radicaux libres hautement réactifs. Le rôle clé dans la pathogenèse des lésions hépatiques induites par CCl<sub>4</sub> est le stress oxydatif, un état physiologique associé au déséquilibre entre les radicaux libres et les défenses antioxydantes. Une étude a été menée en 2016 sur l'activité hépatoprotectrice de l'huile d'olive et de l'huile végétale de *Nigella sativa* contre l'hépatotoxicité induite par CCl<sub>4</sub> chez les rats mâles. En effet, dans cette étude, quarante rats ont été divisés au hasard en quatre groupes de dix rats comme suit :

- Groupe 1 (G1) est un groupe témoin non traité. Ils ont simplement administré de l'huile d'olive (injectée par voie intrapéritonéale à 8h00 le 1<sup>er</sup> et 4<sup>ème</sup> jour de chaque semaine jusqu'au dernier jour de l'expérience) pendant 4 semaines.
- Groupe 2 (G2) était le groupe témoin positif suite à l'administration par voie intrapéritonéale de CCl<sub>4</sub> (1 ml/kg de poids corporel) et d'huile d'olive à 08h00 du matin le 1<sup>er</sup> et 4<sup>ème</sup> jour de chaque semaine, pendant 4 semaines.
- Le groupe 3 (G3) a reçu du CCl<sub>4</sub> (1 ml/kg de poids corporel) et de l'huile d'olive (à 8h00 du matin le 1<sup>er</sup> et 4<sup>ème</sup> jour de chaque semaine par voie intrapéritonéale) avec un

co-traitement quotidien d'huile d'olive (1 ml/kg de poids corporel, pendant 4 semaines) par voie orale en utilisant un tube gastrique, à 8 heures du matin.

- Le groupe 4 (G4) a reçu du CCl<sub>4</sub> (1 ml/kg de poids corporel) et de l'huile d'olive administrés par voie intrapéritonéale avec un co-traitement quotidien d'huile végétale de *Nigella sativa* (1 ml/kg de pc) pendant 4 semaines par voie orale. En utilisant un tube gastrique, à 8h00 du matin.

Dans la présente étude, une augmentation du poids corporel total de 14% chez les rats du groupe témoin positif induit par CCl<sub>4</sub> par rapport au groupe témoin négatif a été observée. La prise de poids corporel est une caractéristique de l'hépatotoxicité induite par CCl<sub>4</sub>. L'administration de CCl<sub>4</sub> provoque une accumulation rapide de triglycérides dans le foie en raison d'une sécrétion de lipoprotéines de très basse densité par les hépatocytes. En outre, une diminution du poids corporel total (respectivement de 6% pour l'huile d'olive et de 9% pour l'huile de *Nigella sativa*) a été détectée après l'administration d'huile d'olive et de l'huile végétale *N. Sativa* à des rats ayant reçu du CCl<sub>4</sub>. Ces résultats ont montré qu'aucune différence significative dans le poids du cœur, du foie, des reins et des testicules n'a été observée après l'injection de CCl<sub>4</sub> chez le rat pendant 28 jours comparés au témoin négatif. Les fonctions hépatiques altérées par CCl<sub>4</sub> se traduisent par une augmentation significative des enzymes hépatiques (alanine aminotransférase (ALAT) de 64%, aspartate aminotransférase (AST) de 67% et phosphatase alcaline (ALP) de 45%) dans le groupe G2 suite à l'administration de CCl<sub>4</sub> par rapport au témoin négatif. L'alanine aminotransférase est considérée comme un biomarqueur de l'hépatotoxicité hautement sensible et spécifique. L'élévation de l'ALP, enzyme de la membrane cellulaire, est un marqueur primaire des effets hépatobiliaires et de la cholestase. En outre, l'élévation des enzymes hépatiques reflète les dommages causés aux cellules hépatiques, suite à la dégradation tissulaire, permettant l'échappement des enzymes intracellulaires du cytosol dans le sang. Le traitement des rats ayant une hépatotoxicité dans G3 et G4 avec de l'huile d'olive ou *N. Sativa* a inversé respectivement l'activité des transaminases et les a ramenés à des valeurs normales indiquant le maintien de l'intégrité fonctionnelle de la membrane cellulaire hépatique (retour au valeur normale plus important avec *Nigella sativa*). Ceci concorde avec l'article de Krishnan et Muthukrishnan qui ont rapporté que l'AST, l'ALAT et l'ALP ont été significativement ramenés à des niveaux normaux par un extrait aqueux à 10% de *N. sativa*. Dans la présente étude, la concentration sérique de protéines totales et d'albumine a diminué (respectivement de 37% et 45%) après l'injection de CCl<sub>4</sub> chez les rats du groupe témoin positif en raison de

l'hépatotoxicité. La toxicité du  $\text{CCl}_4$  a entraîné une diminution significative du taux plasmatique des protéines totales et d'albumine. Cela peut résulter de la libération rapide de protéines totales et de l'albumine du cytoplasme dans le sang après destruction cellulaire et réduction de la biosynthèse protéique. De plus, nos résultats ont montré une augmentation des protéines totales et de l'albumine après administration d'huile d'olive (respectivement de 15% et 17%) et d'huile de *N. sativa* (respectivement de 30% et 33%) à des rats ayant reçu du  $\text{CCl}_4$ . Dans la présente étude, l'hépatotoxicité induite par le  $\text{CCl}_4$  a provoqué une augmentation significative du cholestérol total (TC) de 53%, des triglycérides (TG) de 42%, des lipoprotéines de basse densité (LDL) de 55% et des lipoprotéines de très basse densité (VLDL) de 51,5%. En revanche, la lipoprotéine de haute densité (HDL) était diminuée de 38% par rapport au témoin négatif. Le traitement de ces rats avec de l'huile d'olive et de l'huile de *N. sativa* a significativement amélioré les paramètres du profil lipidique. Le HDL a été restauré aux niveaux normaux, alors que les autres paramètres nécessitent une dose plus élevée d'huile de *Nigella sativa* et d'huile d'olive pour revenir aux niveaux normaux. Le stress oxydatif dû à l'injection de  $\text{CCl}_4$  a provoqué une augmentation de la concentration en acides gras libres dans le foie et une augmentation de l'accumulation hépatique de TG et une alimentation riche avec l'huile d'olive et *N. Sativa* a réduit l'accumulation de TG dans le foie. Dans la présente étude, la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion-S-transférase (GSST) ont diminué dans le sérum (diminution respective de 95%, 65% et 65%) et l'homogénat de cellules hépatiques de G2 (diminution de respective de 96%, 73% et 49%) à la suite de l'injection de  $\text{CCl}_4$  par rapport à G1, alors que le niveau sérique et tissulaire de lipides peroxydés (malondialdéhyde MDA) a été augmenté de 85%. Le traitement de l'hépatotoxicité induite par  $\text{CCl}_4$  avec de l'huile d'olive ou de l'huile de *N. Sativa* dans G3 et G4, a significativement augmenté les CAT, SOD et GSST et réduit MDA par rapport au groupe témoin positif. Dans la présente étude, la toxicité hépatique induite par  $\text{CCl}_4$  chez des rats mâles a montré une augmentation significative de l'interleukine-6 sérique (S.IL-6) et de l'interleukine-6 tissulaire (T.IL-6) (respectivement de 74% et 50%) qui sont des cytokines pro-inflammatoires produites suite à l'inflammation provoquée dans le foie en raison de la toxicité du  $\text{CCl}_4$ . Ce résultat est cohérent avec l'augmentation des enzymes hépatiques dans la circulation sanguine à la suite de lésions des cellules hépatiques. De plus, une diminution des taux de S.IL-6 et de T.IL-6 a été détectée après l'administration d'huile d'olive (diminution respective 23% et 25%) et d'huile de *N. Sativa* ( diminution respective de 52% et 35%) à des rats  $\text{CCl}_4$ . Le traitement de l'hépatotoxicité induite par  $\text{CCl}_4$  avec de l'huile d'olive ou de l'huile de *N. Sativa* dans G3 et G4 a amélioré significativement l'état des tissus ce qui est en

accord avec d'autres études prouvant le rôle hépatoprotecteur à la fois de l'huile d'olive et l'huile végétale de *N. sativa* contre les changements pathologiques (toxicité, inflammation...) dus à leur teneur plus élevée en substances anti-oxydantes comme les flavonoïdes et les composés phénoliques. Pour obtenir une protection complète, la dose d'huile végétale de *Nigella sativa* et d'huile d'olive peut être augmentée à 1,5 ml / kg de poids corporel.

- **Activités gastroprotectrices** (77) (78) (79)

L'application intra-gastrique d'éthanol absolu a longtemps été utilisée comme méthode reproductible pour induire des lésions gastriques chez les animaux de laboratoire. La lésion gastrique s'accompagne de la formation de radicaux libres (FR) et d'espèces réactives de l'oxygène. Ces radicaux, en particulier, semblent jouer un rôle important dans les lésions ulcéreuses et érosives du tractus gastro-intestinal car ils attaquent et endommagent de nombreuses molécules biologiques (acides gras polyinsaturés, ADN, protéines...). Les ROS sont produits en continu pendant les événements physiologiques normaux et éliminés par un mécanisme de défense antioxydant. Dans des conditions pathologiques, les ROS sont surproduits et entraînent une peroxydation lipidique et des dommages oxydatifs. Le déséquilibre entre les ROS et les mécanismes de défense antioxydants conduit à une modification oxydative de la membrane cellulaire ou des molécules intracellulaires. Des études récentes ont montré que les ROS sont l'un des facteurs importants dans l'apparition des lésions des muqueuses induites par l'éthanol. Certains piègeurs ou inhibiteurs de ROS tels que la mélatonine ont des effets protecteurs sur les lésions gastriques induites par l'indométhacine ou l'éthanol chez les rats. Le rôle cytoprotecteur des antioxydants dans la prévention et la guérison des lésions gastriques a été largement étudié dans un certain nombre d'études. Par conséquent, le traitement avec des antioxydants et des piègeurs de FR peut diminuer les lésions de la muqueuse gastrique induite par l'éthanol.

Dans une étude menée en 2005, nous avons étudié l'influence de *Nigella Sativa* (NS) et de la thymoquinone TQ (composant principal) sur les lésions de la muqueuse gastrique induite par l'éthanol. Les graines de NS ont été pulvérisées et l'huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur d'eau avec un rendement de 0,2% (ml/kg). Quarante rats mâles albinos, pesant 200-250 g (âgés de 4 mois), ont participé à cette étude. Les rats étaient nourris et autorisés à boire de l'eau, mais ils ont été privés de nourriture 12 h avant l'expérience. Les animaux ont été placés dans une seule cage à température contrôlée dans un cycle obscurité / lumière. Les

rats ont été répartis en 4 groupes (contenant chacun 10 animaux). Le groupe témoin a reçu du sérum physiologique par voie orale (10 ml / kg de poids corporel) comme véhicule (gavage). Les groupes 2, 3 et 4 ont reçu de l'éthanol (1 ml par rat) par gavage. Les troisième et quatrième groupe ont aussi reçu respectivement NS (10 mL /kg de poids corporel) et TQ (10 mg / kg de poids corporel) 1 h avant l'ingestion d'alcool. Une heure après l'administration d'éthanol, les animaux ont été euthanasiés par dislocation cervicale. L'estomac a été excisé, coupé le long de la plus grande courbure, et rincé doucement avec de l'eau du robinet. L'estomac a été étiré sur un morceau de liège avec la surface de la muqueuse vers le haut, puis examiné dans une position standard pour l'examen macroscopique. La notation de l'ulcère a été réalisée à l'aide d'une loupe. Quatre de ces lésions ont été considérées comme l'équivalent d'un ulcère de 1 mm. La somme des scores de sévérité totale dans chaque groupe de rats divisé par le nombre d'animaux, a été exprimée comme l'indice d'ulcère moyen (UI). Dans la présente étude, l'administration d'alcool absolu (alcool pur ne contenant pas plus de 1% d'eau) par gavage gastrique a induit des dommages marqués sur la muqueuse gastrique qui étaient évidents par un examen macroscopique. Les lésions étaient une hémorragie confinée à la partie glandulaire de l'estomac correspondant à un ulcère sévère. Il a été rapporté que l'alcool provoque un stress oxydatif sévère dans le tissu gastrique se manifestant par une peroxydation lipidique stimulée par une augmentation de la teneur en MDA (malondialdéhyde = produits terminaux de la peroxydation lipidique) et une diminution de la teneur en GSH gastrique (GSH glutathion gastrique). Les activités enzymatiques gastriques de la SOD (supéroxyde dismutase) gastrique et de la GST (glutathion-stransférase) ont considérablement diminué après la consommation d'alcool. La modulation du système d'oxyde nitrique, la réduction du flux sanguin de la muqueuse et la régulation du système nerveux autonome sont impliqués dans le développement des lésions gastriques. L'un des mécanismes majeurs qui provoque l'induction des érosions gastriques par l'alcool est le dommage oxydatif avec la peroxydation lipidique et la génération d'espèces réactives à l'oxygène. En fait, les radicaux dérivés de l'oxygène ont été impliqués dans la pathogenèse des lésions du tissu gastrique et de l'ulcérogénèse. Un prétraitement avec une seule dose orale de NS pourrait en partie réduire l'indice d'ulcère et favoriser la cicatrisation des lésions gastriques induites par une consommation aiguë d'alcool chez les rats. En effet, suite à l'administration de NS, l'indice d'ulcère est réduit de 60%, alors que l'administration de thymoquinone uniquement réduit l'IU de 40%. NS a significativement diminué la teneur en MDA gastrique (diminution de 66%) tout en augmentant le taux gastrique de GSH (augmentation de 20 %) par rapport à l'alcool. Les activités gastriques de la SOD et de la GST étaient nettement plus élevées après

l'administration de NS (augmentation respective de 69% et 54%). De même, l'administration préalable de TQ à des animaux pourrait protéger la muqueuse gastrique et améliorer la plupart des effets indésirables biochimiques induits par l'application d'alcool, mais dans une moindre mesure que NS. Les effets anti-ulcérogènes de NS peuvent être attribués à son effet anti-oxydant en raison d'une augmentation de la teneur en mucine de la muqueuse gastrique, ou de la présence de substances piégeant la FR telles que la TQ. Il a été rapporté que la NS administrée à des cochons, inhibe la production de FR et augmente les taux sériques de SOD et de glutathion. NS pourrait protéger la muqueuse gastrique en augmentant la biodisponibilité de l'acide arachidonique, ce qui entraîne la biosynthèse des prostaglandines cytoprotectrices dans l'estomac. NS entraîne également une inhibition marquée sur la libération de leucotriènes, qui causent des lésions des tissus muqueux et l'hypoxémie. Par conséquent, il peut modifier l'équilibre délicat entre les prostaglandines et les leucotriènes dans la muqueuse gastrique en favorisant la cytoprotection.

- **Activités néphroprotectrices (80) (81)**

De nombreux médicaments de chimiothérapie, tels que les composés du platine (par exemple: cisplatine (CP)), antimétabolites (par exemple : méthotrexate (MTX)), alkylants (par exemple: ifosfamide (IFO)), anthracyclines (par exemple: doxorubicine (DOX), vincristine), des antibiotiques (par exemple: la mitomycine C et la gemcitabine) et certains des nouveaux produits biologiques comme les inhibiteurs de la tyrosine kinase, les anti-EGFR (par exemple: cetuximab) sont connus pour provoquer une néphrotoxicité. Les manifestations cliniques peuvent aller d'une élévation asymptomatique de la créatinine sérique aux perturbations électrolytiques et à l'insuffisance rénale aiguë (IRA) nécessitant une dialyse. Pour cette raison, la néphrotoxicité induite par la chimiothérapie nécessite une réduction de la dose ou l'arrêt du traitement. Par exemple, bien que l'action thérapeutique du cisplatine dépende de la posologie, la principale limitation à l'utilisation d'une dose élevée de ce médicament est l'apparition possible d'effets secondaires forts dans le rein. Par conséquent, il est important de développer des stratégies efficaces pour prévenir la néphrotoxicité des agents anticancéreux et l'investigation dans ce domaine constitue un domaine de recherche actif. La néphrotoxicité représente le principal effet indésirable limitant la dose du cisplatine. Le mécanisme de néphrotoxicité induite par le cisplatine est très complexe et implique l'altération des transporteurs membranaires, tels que les transporteurs d'anions organiques (OAT) et les

transporteurs de cations organiques (OCT), les systèmes d'excrétion de médicaments, et les protéines associées à la multirésistance aux médicaments (MRP), qui sont des glycoprotéines membranaires qui interviennent dans l'exportation d'anions organiques, y compris les médicaments cytotoxiques et antiviraux, à partir d'adénosine triphosphate (ATP). Ce mécanisme cytotoxique comprend également des enzymes qui se lient à la bordure en brosse de la membrane microvillositaire, notamment la phosphatase alcaline (ALP), la leucine aminopeptidase (LAP), la glutamyltransférase (GT), qui sont collectivement appelées enzyme rénale de la membrane de la brosse rénale (RBBME) rapporté par Farooq dans son étude. Des dommages mitochondriaux et la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ainsi qu'un effet vasoconstricteur dans la micro-vascularisation rénale, sont responsables de lésions tubulaires rénales induites par le cisplatine, qui ont été localisées principalement dans le sous-segment S3 du tubule proximal. Par ailleurs, une augmentation de la production de biomarqueurs de peroxydation lipidique, tels que le malondialdéhyde (MDA), le 4-hydroxy-2-nonéal (4-HNE) et le 8-isoprostane, est associé au développement de la néphrotoxicité induite par le cisplatine ou NICP. Il a été démontré que les lésions rénales aiguës (20-30%), l'hypomagnésémie (40-100%), l'hypocalcémie, l'hypokaliémie, le syndrome de Fanconi, l'hypothalamie (atrophie rénale), l'acidose tubulaire rénale distale, la microangiopathie thrombotique, la protéinurie transitoire, la carence en érythropoïétine et l'insuffisance rénale chronique sont les manifestations rénales de la néphrotoxicité induite par le cisplatine.

Parmi les premières études réalisées sur l'effet protecteur de *Nigella sativa* (NS) sur la NICP, il y avait, en 1998, l'étude de Daly, où NS est administré à un modèle animal de NICP (3 mg/kg, par voie intrapéritonéale i.p., pendant 5 jours alternés chez des rats adultes albinos). En particulier, l'administration de NS 30 min avant le traitement par cisplatine a partiellement empêché de nombreux changements dans les activités de la phosphatase alcaline (ALP), de la lactate déshydrogénase, de la malate déshydrogénase, de l'aspartate aminotransférase et de l'alanine aminotransférase, qui étaient significativement diminuées chez les rats traités par cisplatine. Une autre étude a été réalisée sur le même modèle animal, avec une NICP obtenue avec un traitement par cisplatine (3 mg / kg, i.p.) pendant 3 jours alternés, plutôt que 5 jours. Les auteurs ont effectué des examens histologiques, des tests biochimiques, et ont trouvé des résultats mitigés. Bien que NS ait eu des effets non significatifs sur les paramètres biochimiques, les propriétés histopathologiques (formation de corpuscules rénaux congestionnés et dilatés, une dilatation des tubules rénaux avec une muqueuse épithéliale dénudée et une exsudation de la surface apicale de la muqueuse épithéliale tubulaire suite au

traitement par cisplatine) des reins ont été relativement récupérées après avoir utilisé NS. Ces résultats contradictoires peuvent être expliqués comme un possible effet à long terme de NS, bien que l'étude ait montré plusieurs limites, à savoir le manque d'information sur la procédure d'extraction de NS et surtout l'évaluation biochimique limitée (créatinine sérique, urée et triglycérides, glucose urinaire). Une enquête biochimique plus détaillée a été réalisée par Ulu et ses associés, qui ont évalué les effets de la thymoquinone (TQ) sur la peroxydation des lipides-MDA et le 8-isoprostane, ainsi que l'expression des OAT, des MRP dans les reins chez les rats traités par CP. Ils ont adopté un modèle animal de NICP (rats Wistar mâles adultes traités avec CP 7 mg / kg ip en une seule dose), utilisés dans d'autres expériences ultérieures, et ont constaté que les taux de MDA et de 8-isoprostane (augmentés par l'administration CP) étaient réduits chez les rats traités avec TQ (10 mg / kg dans de l'eau potable pendant 5 jours). Concernant les systèmes de transport, une augmentation significative des OAT et des OCT et une régulation négative des MRP (MRP2 et MRP4) ont été observées chez les rats traités avec la combinaison TQ/CP comparés aux schémas thérapeutiques des rats traités uniquement par CP. Les transporteurs MRP régulent l'efflux de médicaments à travers la membrane de la bordure en brosse dans l'urine. De plus, l'alternance de leur expression est associée au degré de lésion oxydative dans le rein du rat. Cela signifie qu'une diminution de l'expression des transporteurs d'efflux MRP conduit à l'amélioration du NICP, car elle réduit la lésion rénale chez les rats. Cette étude a montré que l'effet protecteur de la TQ sur la néphrotoxicité de la CP peut être associé à une augmentation de l'activité des transporteurs d'anions et de cations, combinée à une diminution de l'expression des transporteurs d'efflux MRP. Il est intéressant de noter que l'interférence entre l'administration de TQ et les mécanismes clés mentionnés ci-dessus de la néphrotoxicité CP pourrait exister. Avant Ulu, une autre étude a été menée dans le but d'évaluer l'effet protecteur de la TQ chez la souris et le rat. La TQ (4 mg / kg / jour pour les rats et 8 mg / kg / jour pour les souris dans l'eau potable pendant 5 jours avant et après les injections uniques de CP) a entraîné des réductions de l'urée et de la créatinine sériques et une amélioration significative de la polyurie, du poids des reins et de la clairance de la créatinine. En outre, les tubules rénaux des rats traités avec TQ et CP ont montré moins de dommages dégénératifs et une perte de l'épithélium tubulaire au 5<sup>ème</sup> jour après le traitement que ceux traités avec CP seul. Une enquête récente, dans laquelle l'évaluation de la néphrotoxicité a inclus des mesures biochimiques et des évaluations histologiques dans un modèle animal de NICP, ont été menées par Farooqui. En effet, les auteurs ont rapporté l'effet d'huile essentielle de *Nigella sativa* NSO (2 mL / kg par voie orale) sur les dommages induits par CP, dans le cortex rénal

et la moelle séparément, par l'étude de divers paramètres sériques, enzymes du métabolisme glucidique, RBBM et le système de défense antioxydant. Ils ont constaté que l'administration de NSO réduisait considérablement les altérations induites par le CP dans les activités enzymatiques du métabolisme des glucides et dans les paramètres antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. De plus, des observations histopathologiques ont montré une amélioration de la lésion induite par CP dans le groupe co-traité CP et NSO.

Par conséquent, ils ont déclaré que le rôle protecteur de NSO peut être le résultat des deux mécanismes : l'amélioration du métabolisme énergétique et la restauration de l'intégrité de la RBBM. Cette étude prouve que NS peut inverser les dommages induits par le CP dans le rein grâce à de puissants effets anti-oxydants, consistant en sa capacité à diminuer le stress oxydatif en préservant l'activité des enzymes anti-oxydantes. Des résultats expérimentaux antérieurs ont prouvé que les mêmes agents, tels que les particules diesel, polluants atmosphériques (DEP), présentes dans les poumons, peuvent compliquer la NICP. Sur la base de ces résultats, Ali a mené une étude préclinique sur un modèle de lésion rénale obtenu avec CP (6 mg / kg i.p.) associé à DEP (intra-trachéal 0,5 mg / kg). Ils ont démontré que le traitement par TQ (20 mg / kg par voie orale) était capable d'atténuer certains effets du CP et du DEP. La TQ a empêché l'augmentation de l'alanine transaminase (ALT) et l'aspartate transaminase (AST), bien que les altérations histopathologiques induites dans le poumon et les reins par le traitement CP / DEP aient diminué dans les reins. De plus, comme les concentrations de protéine IL-6 et C-réactive (plus révélatrices de lésion rénale) étaient plus élevées dans le groupe CP / DEP que chez les rats traités avec TQ, cette étude pourrait suggérer un effet protecteur et anti-inflammatoire plus évident de TQ sur les dommages rénaux par rapport au poumon. Une étude a été menée pour évaluer l'effet de NS en comparaison avec *Matricaria chamomilla* (MC) et la vitamine E. Les auteurs ont principalement étudié la lipocaline associée à la gélatinase des neutrophiles (NAGL), un marqueur des lésions rénales tubulaires et de la fonction rénale précoce. Ils ont constaté que MC suivie par NS et la vitamine E réduisaient les lésions rénales, comme déterminé en augmentant le poids corporel, en normalisant les fonctions rénales, en diminuant les marqueurs de stress oxydatif, en améliorant les marqueurs apoptotiques et en minimisant les changements pathologiques.

## **h) Activités neurologiques**

- **Activités antinociceptives (82) (83)**

Une étude de Abdel- Fattah et ses collaborateurs en 2000 a démontré que l'administration par voie orale d'huile végétale de *N. sativa* (50 à 400 mg / kg) extraite de graines égyptiennes de *N. sativa* produit un effet supprimeur dose-dépendant sur les réponses nociceptives provoquées par des stimuli nociceptifs thermiques, mécaniques et chimiques chez la souris, et que l'effet antinociceptif de l'huile de *N. sativa* est en partie attribuable à son composant, la thymoquinone. Ces résultats ont également révélé que les récepteurs opioïdes supraspinaux sont impliqués dans l'effet antinociceptif de la thymoquinone.

Il a été démontré que les réponses nociceptives causées par l'acide acétique (stimuli chimique) et le formol (stimuli chimique) peuvent être supprimées non seulement par les stupéfiants, mais aussi par des médicaments à activité anti-inflammatoire (Shibata, 1989; Reanmongkol, 1994; Nozaki-Taguchi et Yamamoto, 1998). Dans ces études, l'huile végétale de *N.sativa* administrée par voie orale (p.o.) inhibe de manière significative les changements de comportement chez la souris (léchage, morsure de la patte, contraction de l'abdomen, extension des membres inférieurs, sauts) causés par un stimulus nociceptif aigu (plaque chauffante), un pincement de la queue ou l'injection de formoline dans le test au formol. Ces résultats suggèrent que l'anti-nociception induite par l'huile de *N. sativa* est due à un effet inhibiteur sur les systèmes nociceptifs et sur les médiateurs de l'inflammation plutôt qu'un effet sédatif. La découverte que l'effet de l'huile de *N. sativa* dans le test au formol a été inversé par un antagoniste des récepteurs opioïdes, la naloxone, confirme cette idée et suggère l'implication de systèmes opioïdes dans l'anti-nociception induite par l'huile végétale de *N. sativa* chez la souris.

Le test au formol consiste à l'injection de 10 µl de formol à 2% au niveau sous-cutané à la région plantaire de la patte arrière droite de la souris. Quelques minutes après, des réponses telles que léchage et morsure de la patte ayant reçu l'injection ont été enregistrées pendant des périodes de 5 minutes sur une période d'observation de 30 minutes.

Comme il est généralement considéré que les réponses dans le test au formol sont cliniquement pertinentes pour les formes de douleur continue telles que l'arthrose, la polyarthrite et d'autres (Calcagnetti, 1988), les chercheurs ont utilisé ce test pour des expériences ultérieures avec la thymoquinone. Il est intéressant de noter que l'injection

systémique (voie orale 2,5-10 mg/kg et voie intrapéritonéale 1-6 mg/kg et intracérébroventriculaire 1-4 mg/kg de thymoquinone ont montré un effet antinociceptif dose-dépendant sur les phases précoces (0-10 min) et tardives (10-30 min) du test au formol, comme le font les médicaments antinociceptifs à action centrale (Hunskaar et Hole, 1987; Shibata, 1989) et que l'effet de l'injection intrapéritonéale de la thymoquinone sur la réponse en phase précoce était de type « naloxone réversible » (antagoniste des récepteurs opioïdes). Ces résultats indiquent que la thymoquinone elle-même peut exercer une activité antinociceptive via un mécanisme central et suggérer que la thymoquinone joue un rôle important dans l'effet antinociceptif de l'huile de *N. sativa*. L'antagonisme entre la thymoquinone et la naloxone dans la réponse au formol en phase précoce permet d'affirmer que les récepteurs opioïdes supra-spinaux sont impliqués dans l'anti-nociception induite par la thymoquinone dans la réponse en phase précoce au formol.

Cette analyse pharmacologique, utilisant des antagonistes sélectifs des récepteurs opioïdes, a révélé que le blocage des sous-types de récepteurs opioïdes  $\mu$  et  $k$ , au cours de la phase initiale du test au formol, atténue l'effet anti-nociceptif de la thymoquinone. Il existe des preuves que la stimulation des récepteurs opioïdes centraux peut inhiber la phase précoce de la réponse au formol, tandis que l'inhibition de la réponse en phase tardive implique à la fois les récepteurs opioïdes périphériques et centraux (Oluyomi, 1992). De plus, les récepteurs opioïdes  $\mu$  et  $k$ , mais pas les récepteurs opioïdes  $\delta$ , semblent moduler la perception de la douleur aiguë au niveau des loci spinaux et supraspinaux chez la souris (Murray et Cowan, 1991 ; Fujibayashi, 1996).

L'inversion de l'antinociception de la thymoquinone dans la phase précoce par injection intracérébroventriculaire d'antagonistes (naloxone) des récepteurs opioïdes  $\mu$  et  $k$  suggèrent que l'effet de la thymoquinone est dû au moins en partie à la stimulation des récepteurs opioïdes supraspinaux  $\mu$  et  $k$ . Cependant, la différence de sensibilité à la naloxone de l'antinociception à la thymoquinone entre les phases précoce et tardive laisse penser que l'action antinociceptive de la thymoquinone dans le test au formol est induite par des mécanismes autres que la stimulation directe des sous-types de récepteurs opioïdes  $\mu$  et  $k$  situés dans le système nerveux central. Bien que l'injection intracérébroventriculaire de thymoquinone ait atténué la réponse tardive au formol, les auteurs n'excluent pas la possibilité que l'antinociception induite par la thymoquinone par injection intrapéritonéale à la phase tardive soit en partie induite par des mécanismes périphériques. En effet, aucun des

récepteurs opioïdes n'a été impliqué dans l'effet antinociceptif de la TQ au cours de la phase tardive du test au formol.

Une étude antérieure (Houghton, 1995) a révélé que la thymoquinone ainsi que l'huile végétale de *Nigella sativa* (obtenue à partir de graines) inhibe la génération d'eicosanoïdes tels que le thromboxane B<sub>2</sub> et le leucotriène B<sub>4</sub>. La présente étude a révélé que l'administration répétée d'huile de *Nigella sativa* et de thymoquinone a développé une accoutumance à l'action inhibitrice de la sensibilité à la douleur aux deux phases du test au formol. Le mécanisme exact qui sous-tend le développement de l'accoutumance à l'inhibition de la sensibilité à la douleur induite par l'huile de *N. sativa* et la thymoquinone dans le test au formol n'est pas claire, mais une possibilité est que l'huile de *N. sativa* et la thymoquinone produisent une inhibition de la sensibilité à la douleur dans le test au formol en libérant des peptides opioïdes endogènes dans le système nerveux central entraînant une tolérance antinociceptive après administration répétée.

- **Activités neuroprotectrices** (69) (84)

La neuro-inflammation est le principal facteur impliqué dans la pathogenèse de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (AD) et la maladie de Parkinson (PD). L'activation des cellules de la microglie est le principal facteur responsable de l'inflammation et de la progression de la neuroinflammation par la réponse à des stimuli tels qu'une infection, une lésion cérébrale traumatique (LCT).

Le facteur nucléaire kappa-activateur de la chaîne légère des cellules B activées est un facteur de transcription qui se lie à l'ADN et active la transcription des gènes. Son activation est liée à l'inflammation de la microglie du système nerveux central (SNC). NF-κB activé induit la production de cytokines pro-inflammatoires, telles que iNOS, COX-2 et la prostaglandine E synthase-1 microsomale. En outre, l'inflammation augmente la production de dérivés réactifs de l'oxygène en libérant divers médiateurs pro-inflammatoires médiés par NF-κB. Par conséquent, l'inhibition de l'activation microgliale peut avoir pour résultats la survie des cellules neuronales. À cet égard, une étude menée en 2017 par Ravikanth Velagapudi (84) a indiqué que le traitement à base de thymoquinone (TQ) (2,5 , 5 et 10 μM) inhibait la libération de TNF-α, IL-6 et IL-1β. La thymoquinone a également diminué la libération et les

niveaux d'ARN messager (ARNm) de TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  et Prostaglandine E2 (PGE2) dans les cellules microgliales de rats exposés à des lipopolysaccharides (LPS= 100 ng / mL). Les résultats ont montré que le traitement à base de TQ (2,5, 5 et 10  $\mu$ M) inhibait la neuro-inflammation dépendante de NF- $\kappa$ B dans les cellules de la microglie BV2 en diminuant les niveaux de protéine iNOS, la phosphorylation de l'inhibiteur  $\kappa$ B et la liaison de NF- $\kappa$ B à l'ADN. Il a également augmenté le « Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 » (Nrf2) qui est un important régulateur des mécanismes de défense endogènes dans le corps. Dans le noyau, Nrf2 se lie à l'ADN des sites de l'élément de réponse antioxydante (ARE) afin d'initier la transcription de plusieurs gènes cytoprotecteurs. Des études ont lié l'activation de Nrf2 à une activité anti-inflammatoire par le biais de mécanismes impliquant NF- $\kappa$ B. Par exemple, Nair et al. ont identifié des sites de liaison à NF- $\kappa$ B dans les régions promotrices du gène Nrf2, suggérant une interaction entre les deux facteurs de transcription. En outre, la neuro-inflammation et l'activation des cellules de la microglie, en réponse au LPS, se sont révélées plus prononcées chez les souris déficientes en Nrf2 comparé aux animaux normaux. Ces résultats suggèrent que l'activation de la voie de signalisation Nrf2/ARE par la thymoquinone a entraîné l'inhibition de la neuroinflammation à médiation par NF- $\kappa$ B.

La thymoquinone a inhibé la neuro-inflammation induite par le LPS en interférant avec la signalisation du NF- $\kappa$ B dans la microglie BV2.

La thymoquinone a également activé la signalisation Nrf2/ARE en augmentant l'activité transcriptionnelle de Nrf2, la localisation nucléaire et la liaison à l'ADN, ainsi qu'en augmentant les niveaux protéiques de NA(D)PH quinone oxydoréductase-1 et de l'hème oxygénase 1. La suppression de l'activité de Nrf2 par l'intermédiaire de l'ARN avec ou sans l'utilisation de la trigonelline, a entraîné la perte de l'activité anti-inflammatoire de la TQ. Cette étude montre que la TQ inhibe la neuro-inflammation dépendante de NF- $\kappa$ B dans les cellules de la microglie BV2, en ciblant la voie des antioxydants impliquant l'activation de Nrf2 et d'ARE. Il semble que l'activation des voies de signalisation Nrf2/ARE par la TQ entraîne probablement l'inhibition de la neuro-inflammation à médiation par NF- $\kappa$ B.

Une autre étude menée par Yanan Wang en 2015 (85) a également indiqué que la TQ (2,5, 5 et 10  $\mu$ M) empêchait la neuro-inflammation en inhibant la production de médiateurs inflammatoires tels que l'oxyde nitrique (NO), la PGE2, le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  dans les cellules microgliales de BV2. Il a été découvert que la TQ inhibait la production de médiateurs inflammatoires induite par le LPS en bloquant la voie de signalisation phosphoinositide 3-

kinase (PI3K) / protéine kinase B ou Akt / NF- $\kappa$ B sur des cellules microgliales BV2 stimulées par le LPS. Les effets de la thymoquinone sur la production des médiateurs inflammatoires TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , NO et PGE2 ont été mesurés par test ELISA. Les effets de la thymoquinone sur la PI3K, la phosphorylation de l'Akt et l'activation de NF- $\kappa$ B ont été détectés par analyse par Western blot. Les résultats ont montré que la thymoquinone inhibait la production de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , NO et PGE2 induite par le LPS. La thymoquinone a également inhibé l'activation de NF- $\kappa$ B par le LPS. De plus, la thymoquinone inhibe la phosphorylation de PI3K et d'Akt induite par le LPS, qui étaient des molécules en amont de NF- $\kappa$ B.

En conclusion, les données démontrent que la thymoquinone pourrait inhiber la phosphorylation de la PI3K et de l'Akt induite par le LPS, ce qui conduirait à l'inhibition de l'activation de NF- $\kappa$ B et de la production de médiateurs inflammatoires dans les cellules de la microglie BV2.

D'après la médecine traditionnelle, *Nigella sativa* a une action anti-dépressive. La dépression, caractérisé selon le DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*), est définie comme un trouble de l'humeur (humeur dépressive) avec ou sans perte d'intérêt et de plaisir, pendant une même période d'une durée de deux semaines. Les médiateurs inflammatoires tels que la protéine C-réactive, l'IL-6 et le TNF- $\alpha$  peuvent être impliqués dans la pathogenèse de la dépression. Il a été indiqué que les plantes médicinales telles que *Nigella sativa* pourraient être efficaces contre les comportements dépressifs chez des modèles animaux.

À cet égard, Hosseini et ses collaborateurs (86) ont étudié les effets d'un extrait hydroalcoolique de *Nigella sativa* et de la thymoquinone sur un modèle de comportement analogue à la dépression induit par le LPS (100 mg / kg, injection périphérique) chez le rat. L'extrait hydroalcoolique a été obtenu à partir de 100g de graines de *Nigella sativa* qui ont été extraites dans un extracteur Soxhlet de l'éthanol 70% v/v. L'extrait a été concentré sous pression réduite et conservé à -20 ° C jusqu'à son utilisation (rendement de 32%). L'extrait de *Nigella sativa* a été dissous dans une solution saline. Cinquante rats mâles placés dans 5 groupes : contrôle, LPS solution saline, LPS+*Nigella sativa* 200 mg / kg, LPS+*Nigella sativa* 400 mg / kg et LPS+thymoquinone. Deux tests ont été utilisés dans cette étude afin d'étudier les comportements analogues à la dépression chez des rats. En effet, on débute par le test de nage forcée (FST) effectué 3 fois pour tous les groupes et le temps d'immobilité a été enregistré. Les rats étaient considérés comme immobiles lorsqu'ils flottaient dans l'eau, ils ne

faisaient que des mouvements qui leur permettaient de garder la tête hors de l'eau. Puis le test à champ ouvert qui consistait à placer chaque animal dans une zone centrale et à enregistrer leur déplacement par une caméra numérique pendant 5 min, mesurant le nombre de passage dans la zone centrale, le nombre de passage dans la zone périphérique et le nombre de mouvements verticaux lorsque le rat se tient verticalement sur ses pattes de derrière sur le sol et ses pattes de devant sur le mur. Les résultats ont montré que le traitement des animaux par le lipopolysaccharide induit un comportement de type dépression chez le rat. Le lipopolysaccharide est un fragment de la paroi cellulaire de bactéries à gram négatif qui déclenche la production d'IL-1 $\beta$ , d'interleukine-6 (IL-6) et de TNF- $\alpha$ . Les administrations systémiques et centrales de LPS augmentent les taux d'IL-1 $\beta$  et des cytokines pro-inflammatoires dans plusieurs régions du cerveau comme l'hippocampe, l'hypothalamus et les structures diencephaliques.

Un grand nombre de preuves a confirmé le rôle de l'inflammation dans la dépression. Le traitement par interleukine IL-2 ou l'interféron IFN- $\gamma$  chez les patients cancéreux conduit à des taux de dépression élevés. Dans la présente étude, les symptômes dépressifs correspondants ont été observés chez des rats traités au lipopolysaccharide. Il a également été démontré que l'injection périphérique de LPS à des doses supérieures à celles utilisées dans la présente étude induisait un comportement pathologique, y compris une réduction de l'appétit et du poids corporel, réprimait les activités exploratrices et sociales, la fatigue, ainsi qu'une altération des capacités cognitives, une diminution de la libido et du comportement sexuel, ainsi qu'une dépression. L'étude a montré que les temps d'immobilité dans le groupe LPS étaient supérieurs à ceux du groupe témoin dans le test de nage forcée. De plus, le nombre de croisements dans la zone centrale des champs ouverts par les animaux du groupe LPS était inférieur à celui du groupe témoin, ce qui peut constituer une preuve supplémentaire d'un comportement semblable à la dépression dû à l'administration de LPS.

D'autre part, les patients dépressifs présentaient également toutes les caractéristiques cardinales de l'inflammation (rougeur, œdème, augmentation de la chaleur locale, douleur). Les preuves suggèrent que divers traitements anti-inflammatoires ont des effets antidépresseurs chez les animaux de laboratoire et chez les humains. Par exemple, l'inactivation génétique de l'IL-6 chez la souris réduit le comportement de type dépressif dans les tests de natation forcée, de suspension de la queue, d'impuissance acquise. La désactivation du récepteur de l'IL-1 et l'administration d'un antagoniste du récepteur de l'IL-1 bloquent également les comportements de type dépressif induits par le stress dans les tests

d'exploration sociale, les tests d'évasion, et réduisent les comportements sociaux. En accord avec la physiopathologie de la dépression, ces changements comportementaux induits par les cytokines sont associés à des altérations du métabolisme de la sérotonine, de la noradrénaline et de la dopamine dans les régions du cerveau, qui sont essentielles à la régulation de l'émotion, y compris le système limbique (amygdala, hippocampe et noyau accumbens), ainsi que la régulation de la fonction psychomotrice et de la récompense, y compris les noyaux gris centraux.

La supplémentation en TQ pourrait également atténuer la toxicité hépatique, induite par le LPS, sous forme de normalisation du taux hépatique de GSH et de réduction des paramètres de la fonction hépatique. En outre, la formation de peroxydes lipidiques induites par le LPS au niveau hépatique (sous forme de MDA) et l'apoptose (indiquée par l'activité de la caspase-3 hépatique) étaient nettement réduites chez les rats recevant la TQ en même temps que le LPS. En outre, les modifications sériques du TNF- $\alpha$  et une inflammation au niveau hépatique étaient nettement réduites chez les rats, qui recevaient conjointement la TQ et le LPS par rapport aux animaux traités au LPS. Tekeoglu et al. (2006) ont également signalé que la TQ avait des effets anti-inflammatoires sur l'arthrite induite expérimentalement chez le rat et qu'il diminuait les niveaux de TNF- $\alpha$  et d'IL-1 $\beta$  dans la circulation. De même, Mohamed et al. (2005) ont montré que le traitement par la thymoquinone chez le rat empêchait l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale, probablement due à ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Les résultats ont également montré que le prétraitement par la thymoquinone empêchait le comportement de type dépression induit par le LPS chez le rat.

- **Activités anticonvulsivantes (87) (88)**

L'épilepsie reste un trouble neurologique en attente de médicaments plus efficace, possédant notamment une efficacité anti-convulsivante et anti-épileptogène améliorée. Les médicaments actuellement disponibles ne permettant pas de contrôler de manière adéquate les crises épileptiques chez environ un tiers des patients et ne préviennent pas les modifications épileptogènes progressives. L'excitation prolongée des neurones pendant les crises peut entraîner des blessures et la mort résultant de mécanismes biochimiques sous-jacents mal compris. Les preuves accumulées soutiennent l'hypothèse que l'épilepsie expérimentale est médiée par le stress oxydatif, conduisant à des altérations structurelles anormales des protéines cellulaires, des lipides membranaires, de l'ADN et de l'ARN. Les espèces réactives

de l'oxygène (ROS) issues de l'oxygène moléculaire proviennent de différentes sources telles que la mitochondrie, le système xanthine oxydase (XO). Le radical anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), un radical majeur dans les systèmes cellulaires, puis l'enzyme productrice (NADPH oxydase) de ce radical peut augmenter grâce à la conversion protéolytique de la xanthine déshydrogénase en XO et produire une quantité élevée de  $O_2^{\cdot-}$ . La superoxyde dismutase (SOD), une enzyme anti-oxydante intracellulaire, réduit rapidement et spécifiquement l' $O_2^{\cdot-}$  en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). L'autre enzyme anti-oxydante endogène, la GSH-Px (glutathion peroxydase), agit en transformant l' $H_2O_2$  en eau.

Le système antioxydant-oxydant est en équilibre dans des conditions normales. Cependant, un déséquilibre dans ce système provoque des lésions tissulaires dues à des lésions oxydantes. Les ROS détruisent les lipides membranaires et entraînent une peroxydation lipidique. Le malondialdéhyde (MDA) est le produit final de la peroxydation lipidique et sert donc d'indice de la peroxydation lipidique. L'oxyde nitrique (NO) a des rôles contradictoires dans les systèmes cellulaires tels qu'un oxydant ou parfois un piègeur d' $O_2^{\cdot-}$ . La lésion cérébrale oxydative est de plus en plus reconnue comme une voie commune de lésion cellulaire dans de nombreuses atteintes neurologiques aiguës, notamment l'ischémie-reperfusion et l'activité cérébrale épileptiforme, ainsi que dans des états pathologiques plus chroniques tels que la maladie de Parkinson ou la maladie d'Alzheimer. Par conséquent, l'une des principales tendances des études actuelles est la recherche de nouveaux médicaments antiépileptiques dotés de propriétés neuroprotectrices. Des données récentes concernant ce problème montrent l'efficacité de certaines substances possédant des propriétés anti-oxydantes dans le traitement des troubles convulsifs et confortent l'hypothèse du rôle crucial des radicaux libres dans la pathogénie des lésions neurotoxiques au cerveau, à savoir l'épilepsie.

L'objectif de la présente étude (89) menée en 2005 en Turquie était d'évaluer les effets anti-oxydants de l'huile végétale de *N. sativa* (NSO) sur des souris rendues épileptiques et de déterminer si l'administration de NSO peut réduire les crises induites par le pentylènetétrazol (PTZ) chez la souris. Les effets antiépileptiques et antioxydants potentiels ont été comparés avec le valproate, qui est l'un des médicaments antiépileptiques majeurs. Du PTZ a été dissous dans une solution saline isotonique stérile et administré par voie intrapéritoneale (i.p.). Les crises ont été produites par 11 injections au total avec 35 mg / kg de PTZ i.p. tous les deux jours (lundi, mercredi et vendredi). Le valproate (solution de Depakine, Sanofi) a été dilué par addition d'une solution saline isotonique stérile. Valproate et NSO ont été administrés une fois par jour par voie orale (p.o.) en utilisant un tube à l'estomac. Les animaux ont été répartis au

hasard en six groupes expérimentaux. Il y avait 10 souris dans chaque groupe. Dans les trois derniers groupes, toutes les injections de PTZ ont été réalisées 2 h plus tard que les administrations par voie orale (solution saline, valproate et NSO). On a observé des crises convulsives et une létalité chez les souris 30 minutes après le traitement au PTZ. Les données représentent la période de latence, l'intensité médiane des crises et le nombre de souris dans chaque groupe présentant une létalité, après traitement au PTZ. La présente étude a clairement démontré une propriété anti-convulsivante élevée du NSO contre le développement de conséquences épileptiques suite aux injections de PTZ (souris PTZk=souris malade). L'huile végétale de *N. sativa* était plus efficace en tant qu'agent anticonvulsivant que le valproate (VA) lorsqu'on les comparait expérimentalement. L'huile végétale de *N. sativa* était également plus efficace que le valproate contre les effets de la dose unique d'essai de PTZ (75 mg / kg) (crises convulsives et létales tonico-cloniques) chez des souris PTZk, avec une période de latence beaucoup plus importante (NSO+PTZk= 404 sec et VA+PTZk= 108 sec), et une absence de létalité dans le groupe de NSO+PTZk contrairement au groupe VA+PTZk. De plus, ces résultats ont montré que la NSO était un agent neuroprotecteur très efficace contre les crises convulsives provoquées par le PTZ via son activité anti-oxydante. Le traitement par le NSO a permis de supprimer beaucoup plus efficacement les crises convulsives que le traitement au valproate, un médicament destiné au traitement de l'épilepsie en clinique. Pris ensemble, les résultats de l'étude s'ajoutent aux preuves expérimentales qui différencient favorablement le produit naturel, le NSO, d'un médicament antiépileptique conventionnel, le valproate, en ce qui concerne les profils antiépileptiques et leurs effets secondaires. L'huile végétale de *N. sativa* empêche la formation de radicaux libres montrant ainsi une activité anti-oxydante et une protection contre les dommages causés par les radicaux libres. Par conséquent, l'huile végétale est utile dans les maladies dans lesquelles les radicaux libres sont impliqués, par exemple en cas d'anoxie et d'ischémie du cerveau et du cœur, artériosclérose, les maladies inflammatoires en général. Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre les niveaux cellulaires d'espèces réactives de l'oxygène et la défense anti-oxydante cellulaire. La génération de ROS est omniprésente car les ROS sont générées au cours du métabolisme aérobie, c'est-à-dire les oxydations mitochondriales et d'autres oxydations de monoamines. Afin de piéger les espèces réactives de l'oxygène, il existe différents systèmes de défense dans le cerveau, tels que les systèmes enzymatiques (SOD, GSH-Px et catalase), les systèmes non enzymatiques (glutathion et acide urique) et les antioxydants alimentaires (vitamines A, E et C,  $\beta$ -carotène, acides phénols et flavonoïdes...). Si les ROS ne sont pas efficacement éliminées, ils peuvent provoquer des lésions cellulaires

oxydatives, à savoir la peroxydation des phospholipidiques de la membrane cellulaire, des protéines (récepteurs et enzymes) et de l'ADN. Le tissu cérébral est très vulnérable aux ROS, car il génère des taux de ROS très élevés en raison de son métabolisme aérobie très élevé et de sa perfusion sanguine, une défense enzymatique anti-oxydante relativement faible; il est enrichi en lipides qui sont préférentiellement sensibles aux dommages oxydatifs et en cas de dommage de l'ADN neuronal chez l'adulte, le cerveau ne peut pas être réparé efficacement puisqu'il n'y a pas de réplication de l'ADN. Le stress oxydatif dans le système nerveux central (SNC) a été mis en évidence dans plusieurs modèles d'épilepsie expérimentale de rongeurs tels que le modèle de crises convulsives provoquées par injections du pentylènetétrazole PTZ. Le modèle de crises convulsives au pentylènetétrazole se caractérise par une susceptibilité accrue aux crises convulsives après l'injection de doses initialement subconvulsives de PTZ, aboutissant à des crises tonico-cloniques généralisées. Le PTZ bloque sélectivement le complexe chlorure ionophore du récepteur GABA-A et, après administration répétée ou unique, conduit à une diminution de la fonction GABAergique (Corda, 1992) et à la stimulation et à la modification de la densité ou de la sensibilité. Le PTZ peut également déclencher divers processus biochimiques, notamment l'activation des phospholipases, des protéases et des nucléases membranaires (Costa, 1994). Des altérations marquées du métabolisme des phospholipides membranaires entraînent la libération d'acides gras libres (FFA), de diacylglycérols, d'écicosanoïdes, de peroxydes lipidiques et de radicaux libres (Costa, 1994). Cette étude appuie l'hypothèse selon laquelle l'activité épileptique induite par le PTZ coïncide avec un stress oxydatif accru dans le tissu cérébral. Le taux élevé de MDA, marqueur de la peroxydation lipidique, indique une augmentation de la génération de radicaux libres chez les souris PTZk. Le traitement par la NSO a permis d'empêcher de manière significative l'augmentation de la teneur en MDA du tissu induit par le PTZ. Par conséquent, les niveaux significativement plus bas de MDA dans le cerveau des souris NSO+PTZk par rapport aux souris PTZk indiquent une atténuation de la peroxydation des lipides. Il y a eu simultanément une diminution significative des activités SOD et GSH-Px chez les souris PTZk. La glutathion peroxydase GSH-Px est une enzyme antioxydante endogène. Elle réagit avec les radicaux libres et empêche la formation de radicaux hydroxyles, la forme la plus toxique des radicaux libres. Au cours de ce processus défensif, GSH-Px convertit le glutathion réduit en sa forme oxydée. La diminution de l'activité de GSH-Px chez les souris PTZk observée dans notre étude indique qu'il y avait une génération accrue de radicaux libres et que la diminution de GSH-Px était réduite au cours du processus de lutte contre le stress oxydatif. La diminution des niveaux de MDA et l'augmentation des activités SOD et GSH-Px dans le

groupe NSO+PTZk pourraient être dues à la propriété anti-oxydante de la NSO. Dans cette étude, il a été constaté une diminution de l'activité de GSH-Px avec une augmentation concomitante de l'activité de XO dans le groupe PTZk. La diminution de l'activité de GSH-Px tout en augmentant l'activité de XO est compatible avec l'augmentation des niveaux de MDA. Le catabolisme de l'ATP entraîne la libération locale de son métabolite, l'adénosine, qui peut ensuite être désaminé en inosine par l'ADA (adénosine désaminase). L'inosine est métabolisée en acide urique par XO (xanthine oxydase). La xanthine oxydase est une source potentielle majeure de radicaux libres d'oxygène. L'accroissement de la génération de radicaux libres provoqués par XO dans le tissu est déclenché par une forte augmentation de la formation de substrat, secondaire à la dégradation des nucléotides de l'adénine. Dans cette étude, les auteurs ont constaté que le PTZ augmentait l'activité de la XO mais que le traitement par la NSO la diminuait. Ceci montre que la dégradation de l'ATP se produit. Une activité ADA élevée dans le groupe PTZk a été constatée par rapport aux groupes témoins et traités par NSO ou VA. Une activité élevée de l'ADA peut impliquer un catabolisme accru de la purine lors de la capture du PTZ dans le tissu cérébral. Une lésion oxydative de l'ADN pourrait provoquer un catabolisme élevé de la purine. Sur la base des résultats actuels, le traitement par NSO peut empêcher la dégradation de l'ATP en diminuant les activités de XO et de l'ADA. Dans cette étude, la NSO et la VA ont des profils antioxydants similaires, mais des effets anticonvulsifs très différents sur les souris PTZk. Par conséquent, on peut se demander pourquoi la même prévention des paramètres de lésions d'origine oxydantes par l'VA ne conduit pas à un effet anticonvulsivant. Nous pouvons supposer que le potentiel antioxydant de la NSO n'est pas la seule raison responsable de l'effet anticonvulsivant de la NSO. D'autres effets de la NSO, tel que l'activité médiée par le récepteur des neurotransmetteurs, peuvent être impliqués dans le mécanisme d'action de la NSO dans la prévention des crises convulsives provoquées par le PTZ. En conclusion, la présente étude démontre que le NSO a permis de prévenir de manière significative les crises convulsives provoqués par PTZ et d'atténuer le stress oxydatif induit par le PTZ. Par conséquent, son utilisation pourrait constituer une approche thérapeutique pour arrêter ou inhiber la genèse des crises provoquée par des agents excitotoxiques.

- **Activité anxiolytique (90) (91)**

L'oxyde nitrique (NO), un messager intercellulaire dans le cerveau généré à partir de la L-arginine par différentes isoformes de l'oxyde nitrique synthase (nNOS, iNOS et eNOS), joue un rôle important dans divers processus physiologiques et pathologiques. L'oxyde nitrique

synthase (NOS) est localisé dans les régions du cerveau impliquées dans l'anxiété, telle que l'hypothalamus, l'amygdala et l'hippocampe.

Plusieurs études rapportent que l'inhibition de NOS par le N-nitro-L-arginine-méthyl ester, le 7-nitroindazole et le 1-(2-trifluorométhylphényl) imidazole, la S-éthylisothiourée et l'aminoguanidine produit une activité anxiolytique dans différents modèles animaux. On rapporte que la L-arginine, donneur de NO, prévient l'effet anxiolytique des inhibiteurs de la NOS. Le stress aigu induit une augmentation généralisée de la production de NO et provoque un comportement anxieux chez les rongeurs. Il a été observé que le stress induit par l'immobilisation des rongeurs pendant 6 heures augmentait de manière significative l'expression de la NOS chez les rongeurs. Une abondance de cellules contenant des NOS dans l'amygdale médiale suggère une influence nitriergique tout aussi significative sur le traitement des réponses liées au stress dans ces structure. Il a été rapporté que le stress d'immobilisation chez le rat augmente considérablement les taux plasmatiques de nitrites.

Le GABA est le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central des mammifères. Les voies GABA ont un rôle régulateur dans la modulation des symptômes comportementales résultant du stress. Le complexe basolatéral de l'amygdale, zone importante de manifestation de l'anxiété, contient un grand nombre de récepteurs aux benzodiazépines et au GABA et une perfusion de benzodiazépines ou d'agonistes du GABA dans l'amygdale basolatérale ont permis de réduire l'anxiété. Les stress de court terme régulent négativement les voies du GABA. Le stress d'immobilisation induit des modifications rapides et persistantes du complexe de récepteurs GABA-benzodiazépines-barbituriques dans le cerveau des animaux. En outre, il est signalé que le GABA inhibe la libération de NO induite par le stress, et que les conditions de stress connues pour la libération de NO induite par iNOS sont responsables de la dérégulation des voies du GABA.

Le GMPc est régulé à la baisse par le GABA. Au niveau moléculaire, il a été démontré que la thymoquinone régulait négativement le facteur de nécrose tumorale et supprimait l'activation du facteur nucléaire kappa B (NF-B) dans le cerveau et la moelle épinière. La thymoquinone a significativement supprimé l'expression de iNOS. Quatre semaines d'administration quotidienne d'huile végétale de graines de *Nigella sativa* ont provoqué un effet anxiolytique chez le rat en raison d'une augmentation du taux de sérotonine dans le cerveau. Les récepteurs aux benzodiazépines étaient partiellement impliqués dans l'activité anxiolytique de la thymoquinone. Des mécanismes de blocage des récepteurs autres que les benzodiazépines ont

également été proposés pour modérer l'activité anxiolytique de la thymoquinone. L'induction rapportée d'iNOS par le stress de l'immobilisation, l'inhibition observée de la NF-B, un activateur de la transcription d'iNOS, par la thymoquinone et l'inversion de l'effet anxiolytique de la thymoquinone par le flumazénil, un antagoniste des récepteurs de la benzodiazépine, ont incité les chercheurs à explorer l'implication d'une influence nitriergique et GABAergique dans l'effet anxiolytique de la thymoquinone dans des conditions de stress.

Une étude, menée en Inde par Neeraj Gilhotra a été réalisée pour explorer une possible modulation nitriergique de l'effet anxiolytique de la thymoquinone. De plus, prenant en compte les variations des niveaux neurochimiques de NO et de GABA dans des conditions de stress, l'interaction entre le GABA et NO avec la thymoquinone dans des conditions de stress a été étudiée.

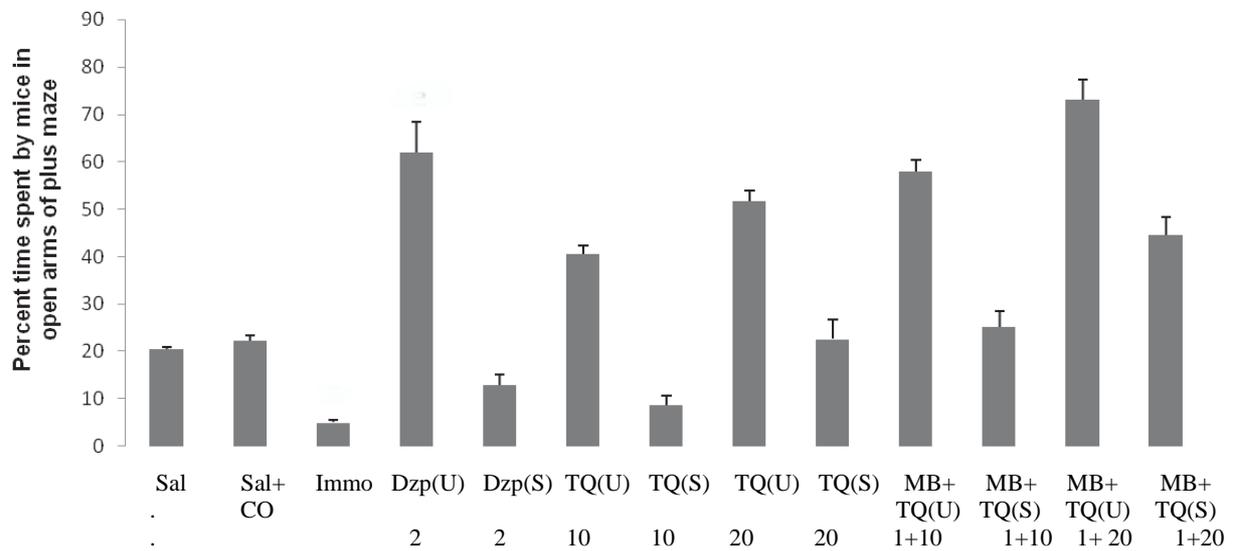
Les souris étaient étudiées dans un environnement avec un cycle de lumière et d'obscurité de 12 h, dans des cages maintenues à une température ambiante contrôlée de 20 à 22 ° C. La thymoquinone, le bleu de méthylène et le diazépam ont été testés dans cette étude. De l'huile de maïs et une solution saline ont été utilisées comme de la thymoquinone et du bleu de méthylène, respectivement. Le diazépam a été dilué dans une solution saline. Le stress est provoqué en immobilisant les souris pendant 6 heures, 8 heures et 14 heures en immobilisant les quatre membres et le tronc sur une planche de bois. Les souris soumises à une immobilisation ont été considérées comme des souris stressées. Les souris non soumises à une immobilisation ont été considérées comme des souris non stressées. Tous les traitements (thymoquinone : 10 et 20 mg / kg ; bleu de méthylène : 1 mg / kg) ont été administrés par voie intrapéritonéale (ip) dans un volume fixe de 1 ml / 100 g de poids corporel.

Dans cette étude, la thymoquinone aux deux doses administrées (10, 20 mg / kg) a montré des effets anxiolytiques significatifs chez les souris non stressées, mais seule la dose la plus élevée (20 mg / kg) a entraîné une activité anxiolytique significative chez les souris stressées. Le diazépam a produit un effet anxiolytique significatif chez les souris non stressées. Ceci est en accord avec un récent rapport (92) stipulant que l'effet anxiolytique de la thymoquinone (20 mg/kg) était comparable à celui du diazépam (2 mg/kg) chez des souris non stressées. De plus, le bleu de méthylène (1 mg/kg) a potentialisé l'effet anxiolytique de la thymoquinone chez les souris non stressées et stressées par rapport à leurs groupes de contrôle respectifs. L'effet anxiolytique de la thymoquinone et du diazépam ne semble pas être associé à des effets moteurs car ces médicaments ne modifient pas de manière significative la fonction

locomotrice des souris traitées par rapport aux souris témoins. Cela confirme l'hypothèse selon laquelle l'effet analogue à l'anxiété de ces médicaments est spécifique. L'immobilisation forcée est l'un des modèles de stress les mieux explorés chez les rongeurs. Ce modèle combine le stress émotionnel (réaction d'évasion) et le stress physiologique (travail musculaire), entraînant à la fois une mobilité et une agression limitées. L'immobilisation physique pendant 6 h utilisée comme facteur de stress chez la souris a permis de constater que les souris exposées au stress présentaient un comportement plus anxieux que les souris non stressées. Cette découverte est en accord avec les rapports précédents selon lesquels un stress aigu (6 h) active la NOS et augmente l'anxiété chez les rongeurs (93). Il a été rapporté que le stress d'immobilisation aigu, utilisé dans cette étude, augmente l'expression de iNOS dans le cortex cérébral et conduit à la production des métabolites stables de l'oxyde nitrique (nitrites et nitrates) dans le plasma et le cerveau. En outre, les modifications cérébrales induites par le stress physique ou psychologique sont en corrélation avec la production de métabolites de NO dans les compartiments périphérique (plasma) et central (cerveau). Dans cette étude, bien que le diazépam (2 mg/kg) ait permis d'augmenter les taux de GABA dans le cerveau chez les souris stressées et non stressées, il a entraîné des effets anxiolytiques importants chez les souris non stressées, mais était incapable d'exercer des effets anxiolytiques dans des conditions stressantes. L'absence d'effet anxiolytique observé du diazépam chez les souris stressées peut être expliquée de manière satisfaisante par deux séries d'observations: (a) les perturbations des récepteurs GABAergiques induites par le stress d'immobilisation et le couplage des benzodiazépines avec ces récepteurs et (b) la forte influence nitriergique anxiogène induite par le stress d'immobilisation et l'anxiété endogène accrue par la voie de signalisation NO-GMPc qui en résulte, accompagnées d'une diminution de l'influence GABAergique. Il est bien connu que les effets sur le comportement des médicaments agissant sur le complexe GABA-benzodiazépine-barbiturique peuvent varier entre les animaux stressés et les animaux non stressés (94). En outre, le stress lié à l'immobilisation s'accompagne d'une augmentation du niveau d'anxiété endogène et induit des changements persistants dans le complexe GABA-benzodiazépinebarbiturate dans le cerveau d'animaux stressés. Le stress d'immobilisation pendant 6 h, tel qu'utilisé dans la présente étude, s'est avéré produire une sous-sensibilité des récepteurs centraux du GABA. Des résultats similaires ont été rapportés avec un stress de contention léger et chronique entraînant une diminution des sites de liaison des récepteurs aux benzodiazépines (95). De plus, il a déjà été rapporté que le stress lié à l'immobilisation pendant 6 h agissait comme un stimulus nitriergique et augmentait l'anxiété endogène. De plus, le NO (dérivé de iNOS) active une guanylyl cyclase endogène sensible au

NO, ce qui entraîne une augmentation des taux de GMPc. On a signalé que l'inhibition de la voie de l'oxyde nitrique – GMPc par inhibition de la NOS produisait des effets anxiolytiques. Le rôle des GMPc est également indiqué par l'observation importante dans l'hippocampe, une zone impliquée dans l'anxiété, selon laquelle les GMPc pourraient réguler négativement la fonction des récepteurs GABA<sub>A</sub> et que la synthèse des GMPc induite par le NO induit une hyperexcitabilité. La L-arginine (100 mg / kg, ip), un donneur de NO, aurait aboli l'effet anxiolytique du diazépam (2 mg / kg, ip). De plus, il a été démontré que les anxiolytiques à base de benzodiazépines ne protègent pas contre divers changements émotionnels produits par les stimuli de stress chez la souris. De plus, le diazépam n'a aucun effet sur le NO dans des conditions de stress; en conséquence, l'effet du diazépam est supprimé en présence de stress. Par conséquent, l'incapacité du diazépam à modifier l'augmentation de l'influence nitriergique induite par le stress peut être responsable de l'effet compromis du diazépam chez les souris stressées. Par ailleurs, la potentialisation de l'activité anxiolytique de la thymoquinone par le bleu de méthylène suggère l'implication de la guanylate cyclase dans l'effet anxiolytique de la thymoquinone. Le bleu de méthylène est un inhibiteur d'un composant de la voie de signalisation du NO, à savoir la guanylate cyclase. Le bleu de méthylène (administré à une dose de 7,5 mg / kg, par voie intraveineuse chez le rat) inactive NO extracellulairement par la génération d'anions superoxydes et produit une anxiolyse par la voie NOS-NO-cGMP. Dans la présente étude, le bleu de méthylène (1 mg / kg) en soi n'a pas eu d'effet significatif sur le comportement de la souris. La cible du bleu de méthylène, à la dose utilisée dans la présente étude, est le GMPc, un effecteur en aval de NO. Par conséquent, le bleu de méthylène n'a eu aucun effet significatif sur le NO. Par conséquent, des doses plus faibles de bleu de méthylène (moins de 7,5 mg / kg) n'ont exercé aucun effet anxiolytique significatif chez les souris non stressées et stressées. Par conséquent, la potentialisation de l'effet anxiolytique de la thymoquinone par le bleu de méthylène suggère l'implication du GMPc dans la manifestation de l'effet anxiolytique de la thymoquinone chez la souris. La thymoquinone (20 mg / kg) a atténué de manière significative l'augmentation des taux plasmatiques de nitrite et la diminution de la teneur en GABA chez les souris stressées (induit par l'immobilisation), ce qui suggère qu'une diminution de NO et une augmentation de GABA pourraient être responsables de l'effet anxiolytique de la thymoquinone chez les souris stressées. Chez les souris non stressées, l'augmentation de GABA induite par la thymoquinone (20 mg/kg) et le diazépam (2 mg/kg) est accompagnée d'un effet anxiolytique important, qui peut également être attribué à l'absence d'influence nitriergique forte chez les souris non stressées. Comme en témoigne le changement insignifiant des taux plasmatiques de nitrite

produits par ces médicaments. Les effets comportementaux et biochimiques observés de la thymoquinone et du diazépam dans des conditions non stressées et stressées, suggère en outre que le stimulus nitriergique chez les souris stressées est suffisant pour perturber la fonction des récepteurs de la benzodiazépine-GABA.



**Figure 18 : Effet de la thymoquinone, du bleu de méthylène et du diazépam sur le comportement de la souris dans le test du labyrinthe (A)**

**Tableau J: Effet de différents traitements sur les taux plasmatiques de nitrites (B)**

Traitement	Doses mg/kg	Taux pl nitrites
Saline 10 ml		8.0 ± 0.51
Saline+Corn oil 10 + 10 ml		10.0 ± 0.8
IMMO 6 h		26.0 ± 1.0
DZP (U)	2	12.0 ± 0.46
DZP (S)	2	24.6 ± 1.4
TQ (U)	10	11.0 ± 0.5
TQ (S)	10	23.0 ± 0.7
TQ (U)	20	12.0 ± 0.46
TQ (S)	20	14.0 ± 1.01
MB + TQ(U)	1 + 10	13.0 ± 0.65
MB + TQ(S)	1 + 10	20.0 ± 1.7
MB + TQ(U)	1 + 20	9.0 ± 0.8
MB + TQ(S)	1 + 20	18.0 ± 0.6

Légende A et B: Sal : solution saline CO : huile de maïs IMMO : immobilisation

DZP (U) : diazépam (non stressé) DZP (S): diazépam (stressé)

TQ (U) : thymoquinone (non stressé) TQ (S): thymoquinone (stressé)

MB : bleu de méthylène Pl : plasmatique

Les doses mentionnées sont en mg / kg

### **i) Activités sur les fonctions de reproduction et de fertilité**

- Actions sur la spermatogénèse (96) (97)**

*N. sativa* est utilisé en médecine traditionnelle iraniennes pour le traitement de l'infertilité (Salehi Surmaghi, 2008). L'efficacité de l'huile végétale de *N. sativa* a été rapportée sur certains caractères de reproduction de poulets mâles (Samir Bashandy 2007) et sur la spermatogénèse et la fertilité de rats mâles (Al-Sa'idi 2009 ; Mukhallad 2009 ; Abdulkarim et

Al-Sardary 2009), mais aucune étude clinique n'a encore été menée pour étudier les effets de l'huile végétale de *N. sativa* sur les hommes stériles jusqu'à présent.

Dans une étude l'huile végétale de *N. sativa* a été administrée à un patient ayant un syndrome métabolique anormal (hypercholestérolémie) ainsi qu'aux patients diabétiques à la dose de 5 ml par jour pendant deux mois et n'a pas montré d'effets secondaires (Najmi 2008 ; Mohtashami 2011). Ainsi, à la lumière des résultats ci-dessus, une étude a été menée en Iran en 2014 pour déterminer les effets de la consommation de 5 ml d'huile de *N. sativa* par jour sur des hommes stériles. De l'huile de *N. sativa* et de l'huile minérale (paraffine) ont été achetées sur le marché local de la ville de Téhéran. 0,1 ml d'un mélange de chlorophylle et d'extrait de piment rouge en proportions égales dissous dans l'huile ont été ajoutés à 100 ml d'huile minérale et d'huile de *N. sativa* afin de donner de la couleur et du goût. Les huiles de *N. sativa* et minérales ont été conditionnées dans des flacons de 150 ml portant les mentions A et B. L'étude est menée sur des hommes en bonne santé âgés de 20 à 45 ans souffrant d'infertilité depuis plus d'un an; des hommes ne recevant aucun médicament pour l'infertilité pendant les 3 derniers mois; des hommes sans antécédents d'insuffisance rénale, hépatique ou autres maladies chroniques; des hommes ayant des échantillons de sperme anormaux (morphologie anormale du sperme inférieure à 30% ou nombre de spermatozoïdes inférieure à  $20 \times 10^6$ /ml ou motilité du type A (avance rapide) inférieure à 25% et mobilité du type B (avance lente) inférieure à 50% selon les directives standard de l'OMS (OMS 1999). Soixantes huit hommes iraniens infertiles âgés de 20 à 45 ans, mentionnés dans les centres d'infertilité de l'hôpital Mahdiah de Téhéran, en Iran, ont été sélectionnés. Tous les patients ont initialement été visités par un urologue, interrogés sur leur comportement sexuel, leurs antécédents d'interventions chirurgicales ou des maladies infantiles telles que la cryptorchidie affectant la fertilité et les antécédents familiaux d'infertilité. L'étude était à double insu et la randomisation était utilisée pour l'affectation des patients aux groupes huile de *N. sativa* et placebo. Aucun effet indésirable n'a été signalé.

Les résultats indiquent que 12 patients de *N. sativa* et 15 patients du groupe placebo avaient un nombre de spermatozoïdes inférieure à  $20 \times 10^6$ /ml ; 15 patients de *N. sativa* et 15 patients du groupe placebo présentaient une morphologie anormale des spermatozoïdes de 30%. Dans le groupe *N. sativa*, 17 patients et le groupe placebo 20 patients avaient une motilité de type A (avance rapide) inférieure à 25% et dans chaque groupe 21 patients avaient une motilité B (avance lente) inférieure à 50%. Le dénombrement, la morphologie et la motilité des

spermatozoïdes du groupe *N. sativa* ont été significativement augmentés par rapport au groupe placebo. Les résultats indiquent que la consommation quotidienne de 5 ml d'huile de *N. sativa* améliore la qualité du sperme, y compris le nombre de spermatozoïdes, la morphologie et la motilité, le volume du sperme, le pH et les cellules rondes (cellules germinales, leucocytes, macrophages, lymphocytes) chez les hommes stériles présentant des paramètres anormaux pour le sperme. Les mécanismes sous-jacents à ces effets ne sont pas clairs, mais les propriétés antioxydantes de l'huile végétale de *N. sativa* peuvent être impliquées. Dans des conditions normales, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont neutralisées par les antioxydants du liquide éjaculatoire (Lamirande et Gagnon 1999), mais en cas de réduction de la propriété antioxydante ou de production accrue de ROS dans le sperme, l'augmentation du niveau de stress oxydatif serait nuisible aux paramètres du sperme (Schulte, 2010 ; Aitken et Krausz, 2001). Un rapport indique également que le taux de ROS est augmenté dans le sperme de patients stériles (Zini,1993). Les effets observés dans la présente étude sont peut-être dus à la capacité de l'huile végétale de *N. sativa* à inactiver les radicaux libres (Burits et Bucar, 2000). À l'appui de cette hypothèse, il convient de noter que la thymoquinone, dotée de propriétés antioxydantes et présente dans l'huile végétale de *N. sativa*, peut neutraliser les ROS dans le sperme et influencer positivement les paramètres anormaux du sperme. En accord avec cette hypothèse, les effets positifs d'antioxydants comme la vitamine E, le sélénium et les compléments alimentaires sur la motilité du sperme d'hommes infertiles ont été documentés (Suleiman 1996 ; Vézina 1996 ; Sinclair 2000). De plus, les effets favorables de l'huile végétale de *N. sativa* sur les paramètres anormaux du sperme dans cette étude pourraient être dus à la teneur en acides gras insaturés de l'huile végétale de *N. sativa* (Nickavar 2003). Cette hypothèse est étayée par des études indiquant une corrélation positive significative entre la supplémentation en acides gras insaturés et l'augmentation du nombre de spermatozoïdes, de la motilité et de la morphologie normale chez les hommes stériles (Nissen et Kreysel, 1983 ; Safarinejad, 2011).

En conclusion, l'huile végétale de *N. sativa* améliore la qualité du sperme chez les hommes stériles aux paramètres anormaux du sperme. Des recherches supplémentaires semblent nécessaires pour élucider les mécanismes d'action possibles des paramètres de sperme d'huile de *N. sativa* et ses effets sur la capacité de reproduction des hommes infertiles ayant des paramètres de sperme anormaux (Tableau K).

**Tableau K : Effets de la consommation de *N. Sativa* et d'huiles minérales pendant 2 mois sur la qualité du sperme chez les hommes stériles**

Paramètres qualité du sperme	Homme fertile	Groupe avant traitement		Groupe après traitement	
		Placebo	Huile de <i>N. sativa</i>	Placebo	Huile de <i>N. sativa</i>
Nombre de spermatozoïdes (millions / ml)	98,23 ± 8,31	46,68±5,11	43,53±4,94	42,88±4,46	60,18±5,16
Motilité des spermatozoïdes (%)	89,46±3,62	62,83±1,56	63,45±2,27	61,66±2,01	69,75±2,25
Morphologie du sperme (normal/anormal)	73,23±2,12	40,56±3,27	39,53±2,54	37,21±3,04	49,09±2,27
Volume de sperme (ml)	4,31±0,23	3,73±0,44	3,77±0,33	3,06±0,25	4,21±0,34
PH du sperme	8,00±0,3	8,44±0,07	8,38±0,07	8,26±0,02	8,01±0,09
Cellule ronde de sperme (%)	0,83±0,01	3,83±0,69	3,32±0,44	4,23±0,83	0,97±0,25

- **Activité galactogène (98) (99)**

Certaines études ont signalé les effets bénéfiques de nombreuses plantes médicinales sur la production de lait. Il a été démontré que plusieurs plantes augmentaient la production de lait en raison de l'induction des hormones lactogènes (prolactine), de l'hormone de croissance et de l'accumulation de caséine dans la glande mammaire.

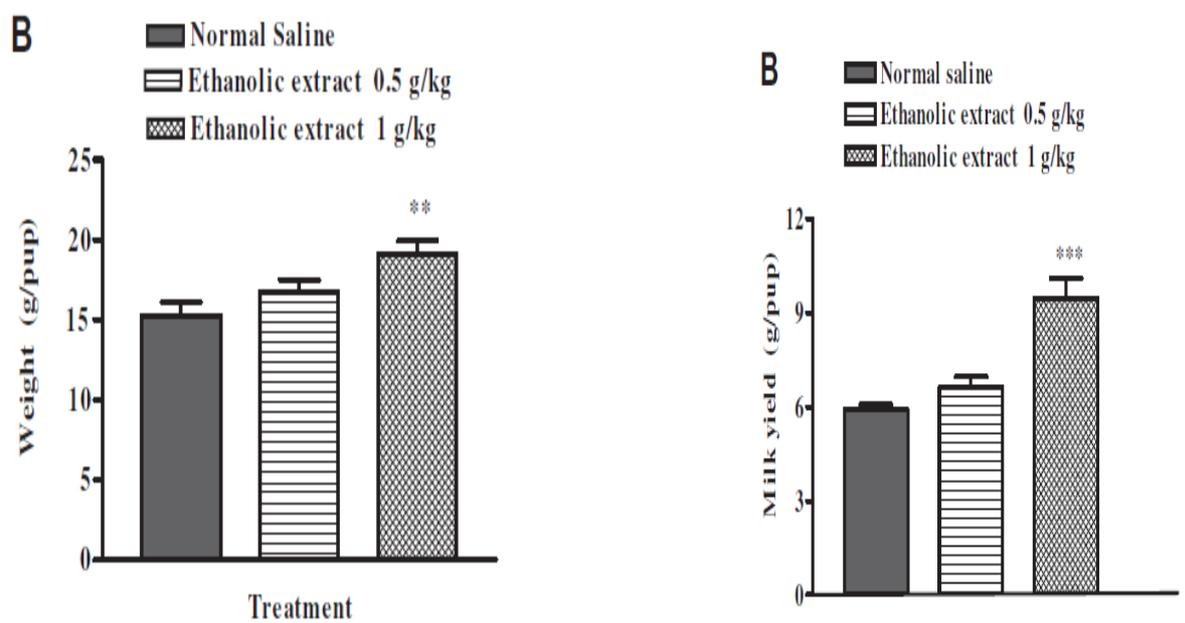
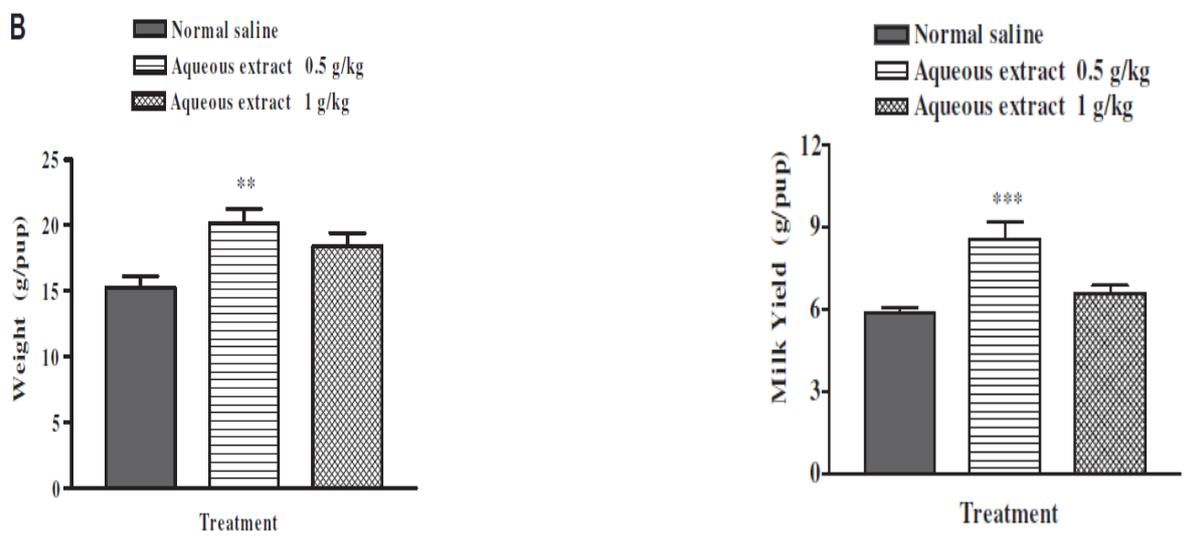
La prolactine a des fonctions et des rôles importants dans la lactogénèse. En effet, la prolactine stimule la production de protéines du lait dans les cellules épithéliales et induit la prolifération des tissus sécréteurs. L'estimation de la production de lait chez des animaux tels que les rats est difficile. Dans certaines études, les mesures du poids des chiots et de leur gain de poids ont été utilisées pour mesurer le rendement et la production de lait. Le poids des chiots et leur gain de poids sont généralement appliqués comme facteur indirect de sécrétion de lait. Cependant, la production de lait peut être mesurée directement en mesurant le poids des petits pendant la période d'allaitement. *Nigella sativa* montre la possibilité d'augmenter la libération de prolactine, la production de lait ou la croissance de la glande mammaire.

Une étude menée en Iran par Hossein Hosseinzadeh a permis de mettre en évidence l'effet galactogènes d'extraits aqueux et éthanoliques de la graine de nigelle sur la production de lait chez le rat. Une étude a été réalisée sur des rates en lactation, pesant environ 250 g et allaitant quatre à six petits chacun, pour évaluer la production de lait. Les animaux étaient placés dans une pièce ventilée selon un cycle lumière/obscurité à 24°C et avaient librement accès à de l'eau et à de la nourriture. Les graines de *N. sativa* ont été achetées sur un marché local à Mashhad, en Iran. Les graines ont été réduites en poudre à l'aide d'un broyeur mécanique. Pour l'extrait aqueux, la poudre de graines (100 g) a été mélangée à 1 000 ml d'eau chaude, et maintenu à ébullition pendant 15 minutes et filtrée. Le filtrat a été évaporé à sec sous pression réduite pour obtenir un résidu sec. L'extrait est solubilisé dans une solution saline. Pour l'extrait éthanolique, la poudre de graines (100 g) a été dégraissée à l'éther de pétrole (40-60°C) à l'aide de l'appareil Soxhlet. Ensuite, la poudre est mise à macérer dans 800 ml d'éthanol à 80% (v / v), pendant 72 heures, puis le mélange est filtré et concentré sous vide à 40°C. L'extrait est solubilisé dans une solution saline. 30 mères allaitantes (pesant 250 g), qui étaient au début de la lactation et allaitaient quatre à six ratons chacune, ont été utilisées pour cet essai. Les femelles ont été divisées en cinq groupes de six animaux chacun. Le groupe 1 a reçu par voie orale 0,5 ml de solution saline (groupe témoin) et les groupes 2 à 5 ont reçu par voie orale 0,5 et 1 g / kg d'extraits aqueux et éthanoliques par 0,5 ml de solution saline.

La détermination du rendement en lait chez les animaux est difficile. La mesure de la production de lait chez les rats à partir du poids des ratons et de leur gain de poids a été appliquée. La production de lait est passée de 4,8±0,1g, 4,84±0,16g et 5,76±0,34g par ratons par jour à 6,92±0,46g, 8,07±0,23g et 10,84±0,18g par ratons par jour pour les témoins, ceux recevant l'extrait aqueux à une dose de 0,5g et ceux traités avec un extrait aqueux à une dose de 1 g/kg, respectivement. Le rendement en lait est passé de 4,8±0,1g, 4,75±0,1g et 6,2±0,15g

par rats par jour à environ  $6,92 \pm 0,46$ g,  $8,27 \pm 0,25$ g et  $11,58 \pm 0,2$ g par rats par jour pour les témoins, ceux recevant de l'extrait éthanolique à une dose de 0,5g et ceux recevant l'extrait éthanolique à une dose de 1 g/kg, respectivement. La production de lait des groupes auxquels on a administré des extraits aqueux (0,5 g/kg) et éthanolique (1 g/kg) au 8<sup>ème</sup> jour de l'essai était significativement différente de celle du groupe témoin. La production de lait, 23 heures après gavage, était significativement augmentée dans les groupes recevant l'extrait aqueux à une dose de 0,5 g / kg et l'extrait éthanolique à une dose de 1 g/kg par rapport au groupe témoin. Le rendement en lait moyen pour le groupe témoin était de  $6 \pm 0,2$  g / rats, et pour les groupes recevant des extraits aqueux (0,5 g/kg) et éthanolique (1 g/kg) étaient respectivement de  $8,8 \pm 0,6$ g et  $9,64 \pm 0,64$ g / rats. L'extrait aqueux à une dose de 0,5 g / kg et l'extrait éthanolique à une dose de 1 g / kg ont augmenté la production quotidienne de lait d'environ 31,3% et 37,6%, respectivement. Le poids de tous les rats a augmenté tout au long de la période de test et le gain de poids des groupes recevant des extraits aqueux (0,5 g / kg) et éthanoliques (1 g / kg) a montré une augmentation significative par rapport au groupe témoin. Les extraits aqueux (0,5 g / kg) et éthanoliques (1 g / kg) ont augmenté le poids corporel de  $13,2 \pm 0,8$ g à  $26 \pm 1,2$ g et de  $12 \pm 0,08$ g à  $23,18 \pm 0,45$ g par rats et par jour, respectivement, et le poids corporel dans le groupe témoin augmenté de  $10,4 \pm 0,4$ g à  $19,2 \pm 0,35$  g par rats et par jour. Les gains de poids quotidiens pour le groupe témoin étaient de  $14,7 \pm 0,86$  g par rats, alors que pour le groupe traité avec l'extrait aqueux (0,5 g / kg) étaient de  $20 \pm 0,1$  g par rats et pour le groupe traité avec l'extrait éthanolique (1 g / kg) étaient de  $19,1 \pm 0,65$  g par rats. Le fenouil (*Foeniculum vulgare*) et l'anis (*Pimpinella anisum*), qui contiennent des constituants œstrogéniques tels que l'anéthole, augmentent la sécrétion de lait, favorisent la menstruation et facilitent la naissance. Ainsi, l'anéthole peut stimuler la libération de prolactine et augmenter la production de lait. L'un des constituants des graines de *N. sativa*, le *trans*-anéthole (1-4%), est responsable de l'activité galactogène de cette plante. De plus, la croissance et la prise de poids des rats dans les groupes traités pourraient être liées à une augmentation de la production de lait. Dans cette étude, il a été montré que la production de lait augmentait considérablement à partir du 8e jour environ après le traitement avec les deux extraits de *N. sativa*. La croissance et la prise de poids des rats pourraient également être dues à l'effet de cette plante sur leur nutrition et leur alimentation. Par conséquent, une évaluation des composants du lait et des examens microscopiques des glandes mammaires et des teneurs en prolactine hypophysaire sont nécessaires pour clarifier le mécanisme exact de l'activité lactogène de cette plante.

**Tableau L : Effet des extraits aqueux et éthanoliques de *Nigella sativa* sur la production de lait moyenne par jour, et sur le gain de poids moyen par chiot**



Les résultats de cette étude ont montré que l'effet bénéfique de l'extrait aqueux de *N. sativa* sur la production de lait était observé à une dose inférieure (0,5 g / kg), tandis que celui de l'extrait éthanolique était observé à une dose élevée (1 g / kg).

Ainsi, l'effet bénéfique de l'extrait aqueux a été démontré à une dose plus faible. On en conclut que les extraits aqueux et éthanoliques de *N. sativa* stimulent la production de lait. Cette recherche confirme l'utilisation traditionnelle des graines de *N. sativa* en tant qu'agent lactogène.

- **Activité oestrogéniques (100) (101)**

*Nigella sativa* contient plus de 30% (w/w) d'une huile végétale contenant 85% d'acide gras insaturé. L'huile végétale de *Nigella sativa* est une source riche en acide linoléique (AL). Étant donné que les œstrogènes ont généralement été utilisés pour traiter les symptômes de la ménopause et que *Nigella sativa* possède un nombre remarquable de 23 stérols (identifiés dans la graine) pouvant améliorer certains symptômes associés à la ménopause, une étude menée en 2013 en Malaisie a permis de mettre en évidence les effets oestrogéniques potentiels de certains des principes actifs de *Nigella sativa*.

Bien qu'aucune étude n'ait été menée pour déterminer l'impact spécifique de l'AL et d'autres principes actifs de *Nigella sativa* sur les performances de reproduction, des études antérieures ont jugés que les acides gras essentiels (AGE) étaient des nutriments essentiels au maintien des performances de reproduction.

Dans la présente étude, les effets oestrogéniques de certains principes actifs de *Nigella sativa*, notamment l'acide linoléique (AL), l'acide gamma-linolénique (AGL) et la thymoquinone (TQ) ont été mis en évidence par le test de cornification vaginale. Cinq groupes de rates ovariectomisées avec huit rates par groupe ont été étudiés.

Les groupes étaient les suivants :

- groupe 1 : contrôle négatif (1 ml d'huile d'olive),
- groupe 2 : contrôle positif (0,2 mg / kg / jour Œstrogène équin conjugué (CEE) dilué dans de l'eau distillée),
- groupe 3 : acide linoléique (dose journalière de 50 mg / kg (AL) basée sur le rendement en huile fixe de *Nigella sativa* (29%) et la concentration de AL (57%) dans l'huile fixe),
- groupe 4 : thymoquinone (dose journalière de 15 mg / kg, calculée en fonction du rendement en huile fixe de *Nigella sativa* (29%) et de la concentration de TQ (16,1%) dans l'huile fixe),

- groupe 5 : acide gamma-linolénique (10 mg / kg d'AGL par jour, calculé sur la base du rendement d'huile fixe de *Nigella sativa* (29 %) et une concentration de AGL (2%) dans l'huile végétale).

Tous les composés ont été dilués dans de l'huile d'olive en tant que « véhicule » et ont été administrés par gavage intragastrique. Les œstrogènes sériques ont été mesurés au départ (jour 0), au onzième jour et à la fin de l'expérience (21e jour) et l'épithélium vaginal était vérifié quotidiennement par prélèvement. Les résultats ont indiqué que les molécules actives de *Nigella sativa*, l'acide linoléique, avaient un faible effet œstrogénique, comme en témoigne son effet sur le taux d'œstrogènes sériques et le pourcentage de cellules cornifiées.

En général, la teneur en estradiol était beaucoup plus élevée dans le groupe acide linoléique que dans le groupe témoin et les autres principes actifs.

Plusieurs études ont suggéré qu'un régime alimentaire, en particulier celui enrichi en acides gras saturés ou insaturés, peut modifier les concentrations sériques de stéroïdes dans diverses espèces, y compris les rongeurs et les humains. Les graisses alimentaires peuvent influencer l'expression des enzymes qui métabolisent les hormones stéroïdes sexuelles. Le tissu adipeux est un site important de la biosynthèse des hormones stéroïdiennes.

Un autre mécanisme potentiel d'influence alimentaire sur la concentration en stéroïdes sexuels est lié au statut du cholestérol en tant que précurseur des hormones stéroïdiennes. Le régime alimentaire peut influencer le cholestérol sérique et l'hypercholestérolémie est corrélée à des concentrations sériques élevées d'androgènes et d'œstrogènes (102).

Des études antérieures sur des rongeurs, des bovins et des humains ont montré que l'alimentation pouvait augmenter les concentrations hormonales sériques, y compris la testostérone et l'œstrogène (103). Les rats nourris avec un régime enrichi en acides gras polyinsaturés présentaient une augmentation de 48% de leurs concentrations sériques en 17 $\beta$ -estradiol par rapport aux rats nourris avec un régime enrichi en acides gras oméga-6. De même, les rates nourries avec un régime pauvre en protéines présentaient une augmentation significative du 17 $\beta$ -estradiol par rapport à ceux recevant un régime de contrôle.

Une alimentation riche en graisses saturées induit une augmentation des concentrations en œstrogènes, en estrone et en sulfate de déhydroépiandrostérone chez la femme.

Un essai clinique contrôlé a révélé que les filles nourries avec un régime « faible en graisses » (FG) présentaient des concentrations sériques de testostérone plus élevées pendant la phase lutéale du cycle, mais des concentrations plus faibles en estradiol. Les variations du niveau d'oestrogène dans l'étude suggèrent que l'acide linoléique peut agir directement sur les récepteurs aux oestrogènes sans augmenter les niveaux d'oestrogène endogènes.

Il a été rapporté que certains acides gras se lient de manière non compétitive ou avec une compétition mixte à une variété de récepteurs, liaisons très probablement basées sur des interactions hydrophobes. Il a été rapporté que l'acide arachidonique, l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide oléique et l'acide docosahexaénoïque se lient aux récepteurs des œstrogènes, de la progestérone, des androgènes et des glucocorticoïdes au niveau de sites de liaison aux stéroïdes endogènes.

La relation entre les graisses alimentaires et les changements de la fonction de reproduction ne se limite pas aux effets sur le cholestérol et la progestérone. Staples et Thatcher ont proposé un système de rétroaction de contrôle qui implique non seulement la progestérone, la synthèse des prostaglandines et le rôle joué par les œstrogènes dans la fonction biologique du sein, de l'utérus, du système cardio-vasculaire et autres.

Les AGPI diminuent les effets de l'estradiol, qui renforcent l'action des prostaglandines (104). En général, les acides gras de moins de 16 atomes de carbone ne se lient pas au récepteur ; cependant, les acides saturés n'avaient pas de sélectivité évidente pour le récepteur par rapport aux acides insaturés.

Des études antérieures ont démontré la capacité de l'acide linoléique pour se lier au PPAR gamma (appartenant à la famille des récepteurs nucléaires d'hormones, ces récepteurs sont des facteurs de transcription exprimés plus spécifiquement dans le tissu adipeux) et modifier l'expression de certains gènes régulés par un élément de réponse aux œstrogènes (ERE). Liu et ses collègues ont rapporté que l'acide linoléique présent dans les fruits de *Vitex-agnus-castus* pouvait se lier aux récepteurs des œstrogènes et induire une certaine régulation positive de l'ARN des RE inductible par les œstrogènes. L'interaction de l'acide linoléique avec le récepteur des œstrogènes a augmenté l'ARNm des gènes inductibles par les œstrogènes dans les cellules Ishikawa et T47 : A18. Ces données suggèrent que la voie probable de la régulation positive des gènes régulés par les promoteurs naturels de l'ERE, tels que ceux rapportés dans des études antérieures, est la liaison de l'acide linoléique aux récepteurs des œstrogènes et leur activation.

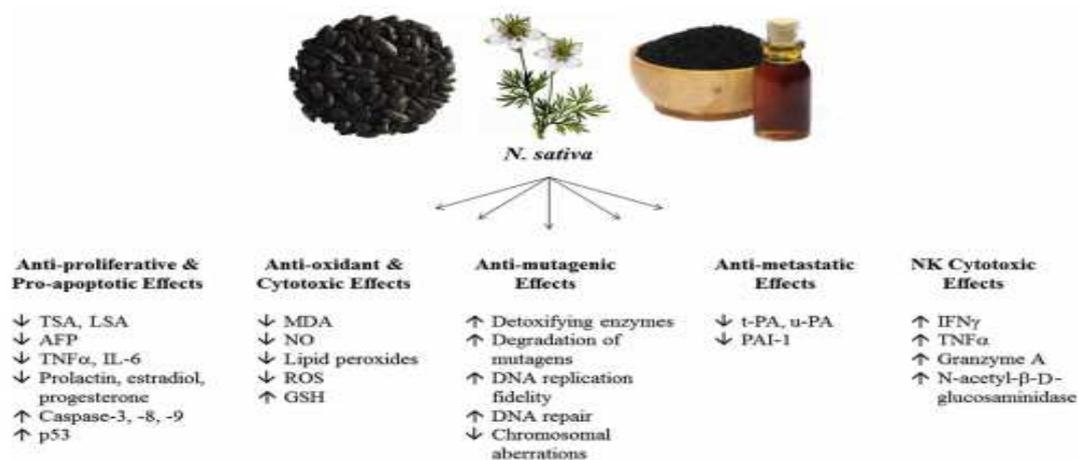
Une caractérisation supplémentaire doit être complétée pour déterminer si *Nigella sativa* contient davantage de composés qui interagissent avec les récepteurs des œstrogènes et stimulent les gènes inductibles par les œstrogènes. Des tests fonctionnels devraient être utilisés pour déterminer si l'acide linoléique lié aux récepteurs nucléaires a un effet sur la régulation de l'expression des gènes.

### j) Activités antitumorales

Bien que la biomédecine et ses domaines associés aient progressé rapidement, le cancer reste une cause majeure de mortalité dans le monde (Stewart et Wild, 2014). Chaque type des cancers nécessite un traitement précis incluant une ou plusieurs modalités telles que la chirurgie, la radiothérapie et / ou la chimiothérapie.

Bien que l'objectif souhaité de la chimiothérapie consiste à éliminer les cellules tumorales, divers types de cellules normales sont également concernés, ce qui entraîne de nombreux effets secondaires indésirables. Ce type d'effets secondaires constitue un problème clinique principal, tandis que la toxicité limite souvent l'utilité des agents anticancéreux. Il est donc indispensable de rechercher des médicaments anticancéreux plus efficaces, moins toxiques et à un coût abordable.

Les produits naturels ont été considérés comme une source précieuse pour la découverte de médicaments anticancéreux. *Nigella sativa* est l'une des plantes médicinales présentant des propriétés anti-cancéreuses (Al-Naggar, 2003 ; Sayeed, 2013,2014).



**Figure 17 : Propriétés anticancéreuse de *Nigella sativa* (105)**

- **Activités cytotoxiques *in vitro*** (106) (107) (108)

Une étude menée en 2017 en Arabie saoudite vise à étudier l'efficacité anticancéreuse *in vitro* de l'huile végétales de graine de *N. sativa* sur des lignées cellulaires hépatiques HepG2, lignées cellulaires de sein MCF-7, lignées cellulaires pulmonaires A-549 et des lignées cellulaires rénales HEK293.

Les graines de *N. sativa* utilisées dans cette étude ont été obtenues sur le marché local de Riyad, en Arabie saoudite. L'huile végétale de *N. sativa* (NSO) a été obtenu par extraction continue dans un appareil de Soxhlet pendant 12 h en utilisant de l'éther de pétrole comme solvant. A la fin de l'extraction, le solvant a été évaporé. L'extrait ainsi obtenu a été conservé à 4°C. Les cellules HepG2, MCF-7, A-549 et HEK293 ont été mises en contact avec diverses concentrations de NSO (10 à 250 µg / ml) pendant 24 h. En outre, les effets des concentrations de NSO cytotoxiques (50, 100 et 250 µg / ml) sur les marqueurs du stress oxydant (GSH et LPO), la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), le potentiel de membrane mitochondriale (MMP), l'expression de l'ARNm de gènes marqueurs apoptotiques (p53, caspase-3, caspase-9, Bax) et anti-apoptotique Bcl-2 ont été étudiés.

L'absorption du bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium bromide (MTT), l'absorption de rouge neutre (NRU) et les dosages colorimétriques sont des critères d'évaluation couramment utilisés pour l'évaluation de la viabilité cellulaire. Le test MTT indique la fonction mitochondriale sur la base de la réduction enzymatique d'un sel de tétrazolium par la déshydrogénase mitochondriale de cellules viables (Mosmann, 1983) et l'absorption de rouge neutre est une mesure de l'intégrité lysosomale, car elle reflète la capacité des cellules viables à incorporer un colorant vital à ces organites, les tests MTT et NRU évaluent différents aspects des fonctions cellulaires.

L'étude montre une diminution du pourcentage de viabilité cellulaire dans les cellules HepG2 et MCF-7 après une exposition à la NSO pendant 24 h. La viabilité cellulaire aux concentrations de NSO de 50, 100 et 250 µg / ml a été mesurée à 44%, 28% et 18% dans les cellules HepG2, 46%, 32% et 24% dans les cellules MCF-7, 89%, 64 et 49% dans les cellules A-549 et 99%, 95% et 89% dans les cellules HEK293, respectivement. La NSO s'est révélée moins cytotoxique pour les cellules A-549 et MCF-7 par rapport aux cellules HepG2 et

aucune cytotoxicité significative n'a été trouvée dans les cellules HEK293 sauf à une dose de 250 µg / ml.

Les effets cytotoxiques d'extraits alcooliques et aqueux de graines de *Nigella sativa*, seuls ou en association avec la doxorubicine, ont également été rapportés avec la lignée cellulaire MCF-7 (Mahmoud et Torchilin, 2013). La cytotoxicité de la NSO s'est avérée plus fréquente dans les cellules HepG2, suivie par les cellules MCF-7 et A-549.

Puisque la réponse cytotoxique la plus élevée a été observée dans les cellules HepG2, elles ont été sélectionnées afin d'approfondir les recherches sur le ou les mécanismes sous-jacents responsables de la réponse cytotoxique. Des études antérieures ont montré que le traitement par des produits naturels (phytothérapie, aromathérapie) favorise le stress oxydatif dans les cellules, comme l'induction de la peroxydation lipidique et la diminution des taux de glutathion (Grigutyte, 2009 ; Abdullah, 2015). Dans cette étude, une augmentation de la concentration de NSO est accompagnée d'une augmentation de la peroxydation lipidique (une augmentation de 14%, 32% et 47% aux concentrations de NSO de 50, 100 et 250 µg / ml, respectivement) et une diminution du taux de glutathion (diminution de 22%, 42% et 64% à des concentrations de NSO de 50, 100 et 250 µg / ml respectivement) après une exposition de 24 heures de NSO dans des cellules HepG2. Les résultats de cette étude suggèrent que le stress oxydatif pourrait être le principal mécanisme de la mort cellulaire dans les cellules HepG2.

Ces résultats corroborent également les études précédentes, qui suggèrent le rôle du stress oxydatif dans la mort cellulaire (Tor 2014, Farshori 2015). L'induction de la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) est l'une des causes courantes de la mort cellulaire par apoptose des cellules cancéreuses. Les résultats ont montré une augmentation de  $145 \pm 6,7\%$ ,  $190 \pm 10,5\%$  et  $225 \pm 15,7\%$  de la génération de ROS à 50, 100 et 250 µg / ml d'huile végétale de *Nigella sativa*, respectivement, par rapport au contrôle. Une diminution statistiquement significative du taux de MMP (potentiel de membrane mitochondrial) dépendante de la concentration de NSO ( $78 \pm 6,4\%$ ,  $54 \pm 4,5\%$  et  $35 \pm 2,8\%$  aux concentrations de NSO de 50, 100 et 250 µg / ml, respectivement par rapport au témoin non traité) a également été observée dans les cellules HepG2 après une exposition de NSO pendant 24 h. Il a été signalé que le niveau élevé de génération d'espèces réactives de l'oxygène peut entraîner des dommages aux mitochondries, pouvant endommager les cellules. La diminution du taux de MMP indique le rôle du stress oxydatif et de la génération de ROS

dans la mort cellulaire de cellules HepG2 traitées avec de l'huile végétale de graine de *N. sativa* pendant 24 h.

On sait également que la voie apoptotique dépendante des mitochondries est impliquée dans la mort cellulaire (Wang, 2011 ; Djafarzadeh, 2012). La voie mitochondriale a également été impliquée dans la fonction d'une majorité de médicaments anticancéreux (Goh, 2014). Les altérations du gène p53 constituent le changement génétique le plus fréquent dans les cancers humains et jouent un rôle important dans la régulation de l'apoptose par l'interaction de la protéine p53 avec les mitochondries et favorisent la perméabilisation de la membrane mitochondriale.

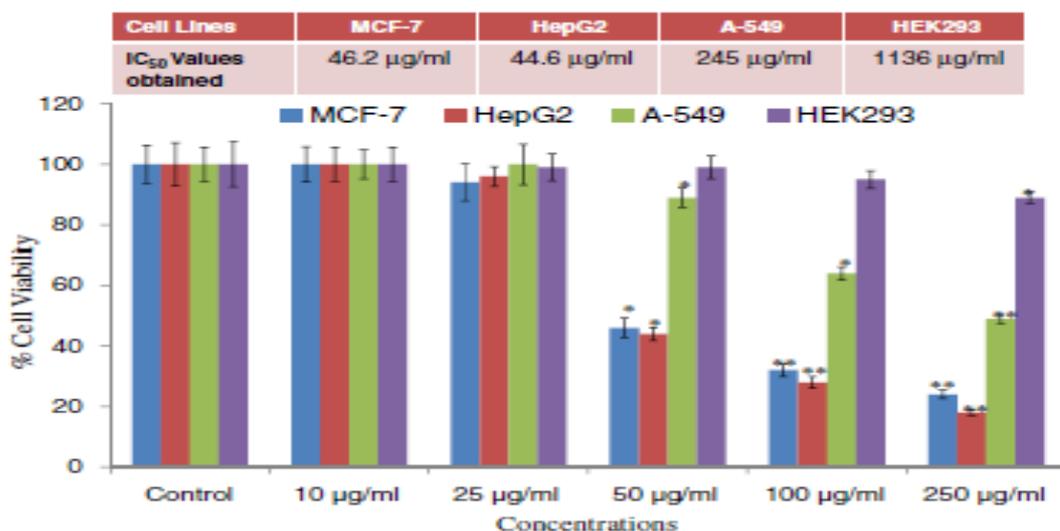
Le gène Bax s'est révélé être une cible de la transcription de p53 et pourrait être régulé positivement en réponse à divers déclencheurs de l'apoptose dépendante de p53. La régulation à la hausse de p53 favorise l'induction de l'expression de Bax pro-apoptotique, et la régulation à la baisse de l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-2. Par conséquent, ce déséquilibre dans le rapport Bax / Bcl-2 entraîne le dysfonctionnement de la mitochondrie et libère le cytochrome-c dans le cytosol, activant la caspase-9 qui déclenche l'activation de la caspase-3 et / ou de la caspase-7 (Zou, 1999). L'expression de l'ARNm des gènes d'apoptose mitochondriale au niveau transcriptionnel indique une régulation à la hausse de p53, Bax, la caspase-3 et la caspase-9 et une régulation à la baisse des gènes Bcl-2.

Tous ces résultats suggèrent que l'apoptose induite par la NSO dans les cellules HepG2 implique la voie mitochondriale. Les résultats rapportés dans cette étude ont prouvé le rôle crucial de la voie apoptotique mitochondriale dans l'efficacité antitumorale.

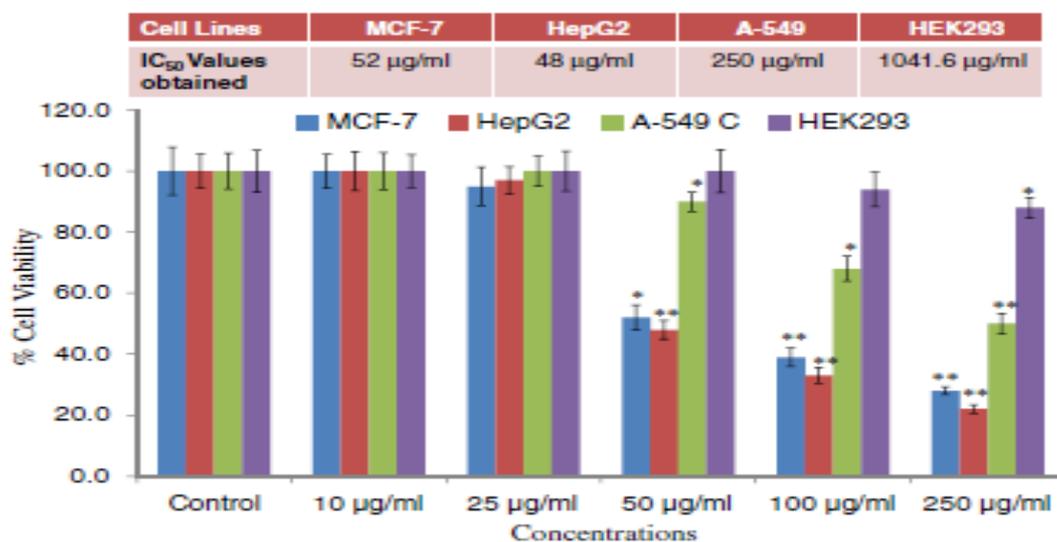
Ainsi, l'étude démontre que l'huile végétale de *Nigella sativa* inhibe la prolifération cellulaire des cellules cancéreuses d'une manière dépendant de la concentration. Il a également été découvert que la NSO induisait une apoptose mitochondriale dépendante des ROS via la voie p53 dans les cellules de carcinome hépatocellulaire. L'apoptose s'est avérée associée au stress oxydatif et au potentiel de la membrane mitochondriale. L'expression de l'ARNm des gènes apoptotiques (p53, caspase-3, caspase-9 et Bax) était régulée positivement et le gène anti-apoptotique Bcl-2 était régulé négativement. Cette étude fournit des réponses cytotoxiques différentielles de la NSO contre les cellules HepG2, MCF-7 et A-549.

Ces résultats suggèrent que l'huile végétale de graine de *N. sativa* a un potentiel anticancéreux et pourrait être considéré comme un agent chimiothérapeutique prometteur pour traiter le cancer.

**Tableau M : Évaluation de la cytotoxicité par dosage MTT dans les cellules MCF-7, HepG2, A-549 et HEK-293. Toutes les cellules ont été exposées à différentes concentrations d'huile végétale de graines de *Nigella sativa* (NSO) pendant 24 h.**



**Tableau N: Évaluation de la cytotoxicité par dosage d'absorption de rouge neutre (NRU) dans les cellules MCF-7, HepG2, A-549 et HEK-293. Toutes les cellules ont été exposées à différentes concentrations d'huile végétale de graines de *Nigella sativa* (NSO) pendant 24 h.**



- **Activités cytotoxiques *in vivo*** (109) (110)

La doxorubicine (DOX) est un agent chimiothérapeutique qui agit par différents mécanismes moléculaires, notamment l'inhibition de la topoisomérase II, l'intercalation avec des paires de bases d'ADN, l'induction du stress oxydatif et l'activation de l'apoptose (Tacar, 2013). L'effet indésirable le plus grave de la DOX est la cardiotoxicité provoquée par la génération d'espèces réactives de l'oxygène, qui augmentent le stress oxydatif cardiaque et la peroxydation des lipides. Par conséquent, il est essentiel de découvrir de nouvelles approches pour minimiser les effets secondaires de la DOX. Ces approches incluent, entre autres, l'utilisation de substances naturelles, l'amélioration des systèmes d'administration de médicaments (DDS) et l'utilisation d'analogues de la DOX (Cote, 2015).

La thymoquinone (TQ) est une molécule active présente chez *Nigella sativa* et a été étudiée pour ses activités anticancéreuse, anti-inflammatoire et anti-oxydante. Il a été suggéré que l'effet anticancéreux de la TQ était dû à un effet anti-prolifératif, à un arrêt du cycle cellulaire, à l'induction de l'apoptose et à la modulation de diverses voies moléculaires (Elmaci et Altinoz, 2016). De plus, la TQ peut agir comme un piègeur de radicaux superoxydes (Erboga, 2016). Les nanotechnologies ont été évaluées et mises en œuvre dans la gestion et le traitement du cancer, ce qui pourrait révolutionner le diagnostic, la détection et les traitements. Elles offrent de nombreux avantages potentiels, notamment une augmentation de la solubilité et de la biodisponibilité des médicaments, une réduction de la pharmacorésistance, ainsi qu'un ciblage passif et actif qui améliorent la spécificité, l'efficacité et donc la sécurité (Tong et Kohane, 2016).

Parmi les systèmes d'administration de médicaments actuels, il y avait des polymères biocompatibles et biodégradables, qui ont montré des résultats prometteurs concernant l'amélioration de l'activité anticancéreuse (Pawar et Vavia, 2015). Récemment, un polymère de polysaccharides hautement purifié peut être formulé sous la forme d'un gel stable (gel F2). Le composant principal du gel F2 est un polymère de haut poids moléculaire dérivé de nanofibres de poly-N-acétyl glucosamine (pGlcNAc) entièrement acétylées. Le gel F2 peut être chargé avec les médicaments souhaités, ce qui crée un système de délivrance de médicaments efficace pouvant assurer la libération prolongée des médicaments incorporés (Salem, 2014).

Une étude menée en 2017 en Egypte, visait à comparer l'effet adjuvant de la matrice composite (gel F2) avec DOX / TQ par rapport à un traitement conventionnel. De plus, elle met en évidence l'effet bénéfique possible de la thérapie combinée avec DOX et TQ sur la potentialisation de la cytotoxicité et sur la réduction de la cardiotoxicité du traitement par DOX chez les souris atteintes d'un cancer.

80 souris femelles albinos âgées de 6 à 8 semaines et pesant 18 à 22 g ont été utilisées dans cette étude. Les chercheurs ont induit un cancer du sein chez la souris par des cellules de carcinome d'Ehrlich. Ces cellules ont une grande capacité de transplantation, une ressemblance avec une tumeur humaine et une grande sensibilité à la chimiothérapie (Ozaslan, 2011). L'implantation des cellules de carcinome d'Ehrlich a entraîné le développement progressif d'une tumeur solide dans la cuisse en l'espace de deux semaines. Dans cette étude, ils ont utilisé un nouveau système de libération de DOX et / ou de TQ en utilisant des nanofibres de poly N-acétyl glucosamine (p-GlcNAc) naturelles, d'origine murine et biocompatibles, connues dans le commerce sous le nom de gel F2. La matrice composite de gel F2 a été préparée selon Salem (Salem, 2014) avec une modification mineure.

Les animaux ont été divisés au hasard en deux groupes principaux : le groupe témoin normal (gr I) et le groupe carcinome d'Ehrlich solide (SEC) (gr II), eux-mêmes divisés en sept sous-groupes, chacune de 10 souris : contrôle de la tumeur, gel F2, DOX libre, gel DOX + F2, TQ libre, gel TQ + F2 et groupes de gel DOX + TQ + F2. Le gel F2 seul a été administré à une dose de 100 µL / souris (Salem, 2014).

La DOX libre a été administrée à une dose de 5 mg/kg (Yoo et Park, 2004). TQ a été administré à une dose de 3 mg/souris (Banerjee, 2009). DOX + F2 gel a été administré à 200 µL contenant 100 µg de DOX. Le gel TQ + F2 a été administré à 200 µL contenant 3 mg de TQ. Le groupe recevant l'association (gel F2+DOX+TQ) a reçu 300 µL contenant 100 µg de DOX et 3 mg de TQ. Chaque traitement a été donné en cycle : un cycle par semaine pendant 3 semaines (12, 19 et 26 à partir de l'inoculation de la tumeur) par injection sous-cutanée dans la tumeur.

Après le traitement, l'étude démontre que le chargement de DOX et de TQ avec du gel F2 réduisait de manière significative le volume de la tumeur par rapport à leurs formes libres. En outre, ils ont inhibé la croissance tumorale de 43% et 31%, respectivement, par rapport aux

formes libres (33% et 22%, respectivement). Ces résultats pourraient être attribués au gel F2, qui améliore l'efficacité des deux médicaments.

L'amélioration du TIR (Taux d'inhibition de la tumeur) par chargement dans la matrice composite était en accord avec la diminution observée du niveau de la protéine anti-apoptotique Bcl-2 et la régulation à la hausse du gène suppresseur de tumeur P53 dans le tissu tumoral. Dans la mesure où l'induction de la SEC (carcinomes d'Erlich solide) a provoqué des perturbations et un déséquilibre dans la voie de l'apoptose, le groupe contrôle a présenté le niveau le plus élevé de Bcl-2 et la plus faible expression génique de P53.

Le traitement des souris porteuses de carcinomes d'Erlich solide (SEC) avec la DOX libre a montré une baisse du niveau de Bcl-2, ce qui est cohérent avec d'autres études, qui ont démontré l'effet de la DOX sur le cancer de l'estomac (AGS) et le cancer du poumon (A549) et a attribué l'impact de DOX sur Bcl-2 par les voies de l'apoptose du ligand Fas / Fas (Farhane, 2017; Florou et Tacar, 2013).

De même, DOX a montré une régulation positive du niveau d'expression du gène P53, ce qui concorde avec d'autres études examinant l'influence de la DOX sur le cancer du sein chez l'homme (MCF-7) et l'hépatome humain (SMMC-7721 et QGY-7701). Ces études suggèrent que DOX régule à la baisse Bcl-2, ce qui à son tour régule à la hausse P53. De plus, DOX provoque l'activation de la protéine kinase activée par l'AMP, ce qui induit la P53 et initie l'apoptose (Ebata, 2017; Meredith et Dass, 2016; Shamseddine, 2015). Le chargement de DOX avec la matrice composite de gel F2 a montré une baisse plus importante de la concentration de Bcl-2 et une meilleure régulation à la hausse du gène P53 par rapport à la DOX libre. Ces résultats pourraient être attribués au gel F2, qui entraîne l'activation du système immunitaire inné et sert en même temps de véhicule d'administration à libération prolongée pour la DOX incorporée. Cela crée un microenvironnement qui améliore la cytotoxicité de la DOX.

Ces résultats actuels sont en accord avec des études antérieures, selon lesquelles une dose unique d'interleukine-12 (IL-12) chargée dans un gel F2 équivaut à l'activité attendue de plusieurs doses d'IL12 libre sur une lignée cellulaire in vitro de tumeurs du mélanome (B16) (Salem, 2004). Par conséquent, l'étude prouve la capacité de la matrice de gel F2 à libérer des doses faibles mais significatives de médicaments chargés contre la maladie ciblée sans induire de toxicité ni affecter l'efficacité du médicament.

L'administration de TQ a montré une diminution remarquable de la concentration de Bcl-2. Ces résultats sont conformes à ceux d'autres études *in vitro* qui ont établi l'effet régulateur négatif de la TQ sur Bcl-2 à l'aide de lignées cellulaires de myélomes (MDN et XG-2) et de carcinomes rénaux (Caki, A-498 et ACHN) (Badr, 2011 ; Park, 2016). De plus, le gène P53 est régulé positivement par la TQ, en accord avec d'autres études prouvant l'effet de TQ sur le P53 en utilisant des lignées cellulaires de cancer du sein (MCF-7), du carcinome colorectal (HCT-116) (Dastjerdi, 2016 ; Woo, 2012).

L'activité antitumorale de TQ et sa capacité à intensifier l'efficacité thérapeutique des agents chimiothérapeutiques ont été démontrées dans plusieurs études *in vivo* et *in vitro* incluant le côlon, la cavité buccale, le foie, la peau, le sein... etc. (Kundu, 2014 ; Schneider-Stock, 2014 ; Woo, 2012).

L'injection de matrice nanocomposite de TQ a démontré une plus grande activité que la TQ libre, cet effet pourrait être attribué à l'influence des nanofibres de gel F2. De plus, l'étude montre que le groupe de contrôle des tumeurs a présenté une augmentation significative du taux de MDA (malondialdéhyde) cardiaque par rapport au contrôle. L'augmentation significative de la teneur en MDA cardiaque a été observée dans le groupe DOX libre, cette dernière exagérant la production de ROS en raison de son effet de stress oxydatif, en plus de celle formée par la tumeur et entraînant donc une toxicité pour les cardiomyocytes (Chen, 2015). Le stress oxydatif de la DOX est attribué à sa structure de quinone qui peut être oxydée en un radical semiquinone qui, à son tour, réagit avec l'oxygène pour générer du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène. En effet, DOX est un chélateur du fer et le complexe DOX-fer catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en radicaux hydroxyles hautement réactifs (Yang, 2014).

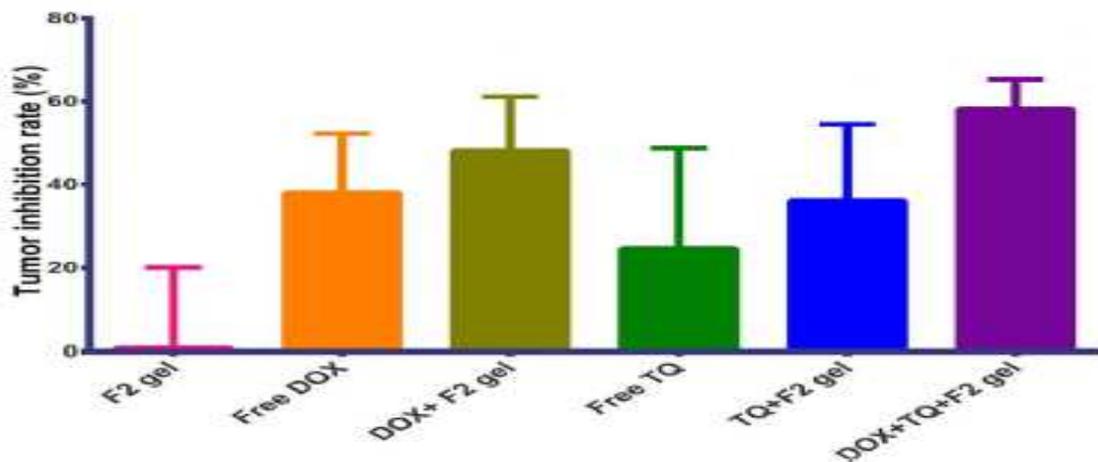
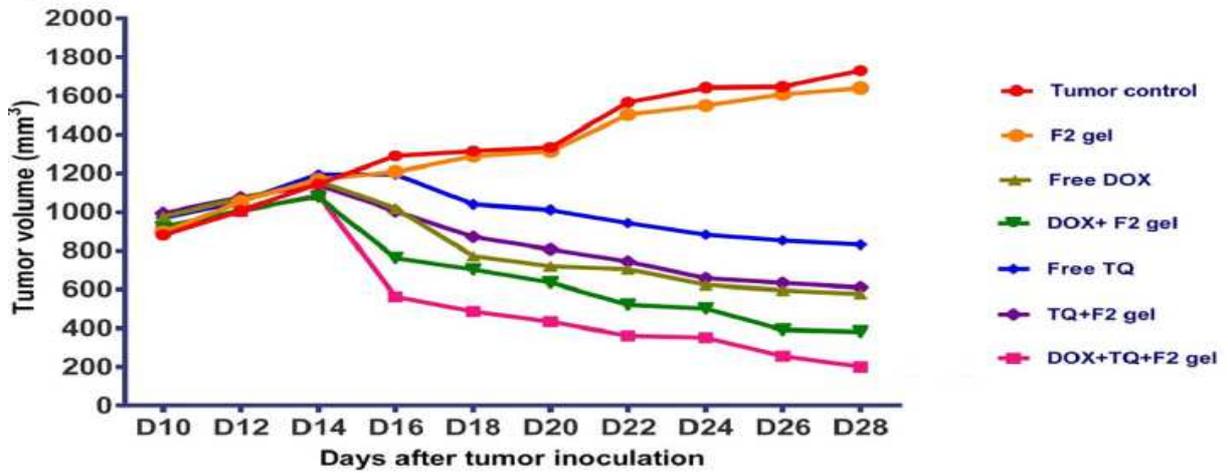
Il est à noter que le gel DOX + F2 a montré une réduction significative du contenu cardiaque de la MDA par rapport au groupe DOX libre. Ces résultats pourraient être liés aux avantages offerts par la matrice composite gel F2.

L'administration de TQ a montré une baisse significative de la MDA cardiaque en raison de son effet anti-oxydant. Cette dernière conclusion est en accord avec plusieurs études qui ont prouvé l'effet cardioprotecteur du TQ par son activité anti-oxydante médiée par sa propriété anti-radicalaire, l'inhibition des enzymes anti-oxydantes telles que la catalase, la peroxydase et, également, l'augmentation du taux de glutathion (Kundu, 2014 ; Woo, 2012).

La LDH (Lactate déshydrogénase) est considérée comme un marqueur tumoral car elle est responsable de la réduction du NAD<sup>+</sup> producteur de pyruvate en lactate, ce qui est essentiel pour la voie glycolytique et fournit ainsi aux cellules l'oxygène adéquat requis pour leurs activités métaboliques. La régulation à la hausse de la LDH s'est accompagnée d'une progression de la maladie et de cancers métastatiques. Il a été démontré que la cardiomyopathie était associée et indiquée par un taux sérique élevé de LDH ainsi que par l'enzyme cardio-spécifique CK-MB, responsable de la phosphorylation de la créatine dépendante de l'ATP et essentielle à la production d'énergie dans le muscle cardiaque (Kristjansson, 2016). Dans cette étude, une élévation significative de la LDH et de la CK-MB sériques a été observée dans le groupe sous DOX libre. Le chargement de DOX dans le gel F2 a montré une réduction significative des activités des deux enzymes par rapport à la DOX seule. Cette amélioration pourrait être attribué aux avantages de l'utilisation de nanofibres par rapport à la chimiothérapie conventionnelle, mentionnée dans plusieurs études et incluant l'amélioration de la solubilité, la capacité de charge médicamenteuse élevée, un meilleur contrôle de la distribution du médicament dans le temps et une interaction minimale des médicaments avec des cellules normales, évitant ainsi les effets secondaires (Wang, 2016).

Dans le même contexte, le traitement avec le gel TQ + F2 a entraîné une baisse significative de l'activité enzymatique de la LDH par rapport au TQ libre et au contrôle tumoral. Le choix de la TQ dans le présent travail dépend de l'effet cardioprotecteur rapporté de la TQ. Il a été démontré que la TQ pouvait réduire la pression artérielle et la fréquence cardiaque, moduler le canal Ca<sup>2+</sup>, responsable de la contraction cardiovasculaire, conduisant ainsi à la relaxation du muscle cardiaque (Ojha, 2015). Ainsi, l'utilisation de la TQ en tant que traitement adjuvant avec la DOX pourrait renforcer ses effets cytotoxiques et limiter sa cardiotoxicité par l'induction d'une apoptose et d'activités anti-oxydantes. Le chargement de DOX et / ou de TQ dans des nanofibres de gel F2 a démontré une activité antitumorale accrue et conféré une certaine protection aux cardiomyocytes, effet qui pourrait être potentiel dans le domaine de la recherche de formulations d'agents chimiothérapeutiques avec moins d'effets secondaires sans nuire à leur efficacité.

**Tableau O : Effet de DOX et de TQ et de leur nanoformulation chez des souris portant SEC. ((A) le volume de la tumeur, (B) taux d'inhibition de la tumeur)**



**k. Propriétés anti-angiogéniques (111) (112) (113)**

Toutes les cellules cancéreuses montrent un cycle cellulaire perturbé qui est, maintenus par divers gènes. Tout dysfonctionnement de ces gènes se termine par des anomalies dans les réactions métaboliques, qui entraînent à leur tour une augmentation des espèces réactives de l'oxygène et des radicaux libres.

Dans des conditions physiologiques normales, des quantités de ROS sont produites et contribuent à de nombreuses activités biologiques telles que la signalisation cellulaire, diverses voies de transmission, les réponses mitogéniques et l'immunité contre les infections.

Cependant, en cas de perte de contrôle, il existe des quantités excessives de ROS qui endommagent les lipides, l'ADN et les protéines. Ces dommages entraînent une instabilité chromosomique accrue et une expression génique altérée, ce qui entraîne un certain nombre de perturbations notamment l'apparition de lésions cancéreuses.

Pour éviter ce processus, les organismes aérobies utilisent un système antioxydant complexe, composé d'enzymes et de nutriments tels que la superoxyde dismutase, la catalase, les minéraux, les vitamines. En affaiblissant ce système, les cellules cancéreuses se développent et prolifèrent pour former une masse tumorale qui a grand besoin de sang. Les cellules cancéreuses stimulent la croissance des vaisseaux existants vers la tumeur, également appelée angiogenèse pour répondre à leurs besoins. Le facteur de croissance de l'endothélie vasculaire (VEGF) est considéré comme le principal facteur de promotion du processus d'angiogenèse, alors que l'endostatine serait l'agent inhibiteur le plus actif.

Étant donné que les traitements existants ont montré des effets secondaires considérables et que les taux d'incidence du cancer étaient moins élevés chez les populations méditerranéennes et asiatiques, l'impact de la nutrition et des plantes médicinales a récemment pris plus d'importance. Une étude menée en 2015 en Iran a permis d'étudier les effets antioxydant et antiangiogéniques du prétraitement avec de l'huile végétale de *Nigella Sativa* sur la croissance tumorale, les enzymes antioxydantes et l'angiogenèse dans l'adénocarcinome du sein chez la souris BALB / C.

Après un traitement préalable de 4 mois par gavage avec de l'huile végétale de NS (groupe NS1 : 1ml/kg ; gr NS2 : 2ml/kg ; gr NS3 : 4 ml/kg), toutes les souris ont reçu par voie sous-cutanée l'implantation d'une tumeur mammaire murine spontanée [SMMT], de volume inférieur à 0,5 cm<sup>3</sup>. Le SMMT est un carcinome invasif (canaire) se développant spontanément chez des souris BALB / C femelles.

Dans cette étude, il a été démontré que les souris prétraitées avec 4 ml / kg / jour d'huile végétale de NS avaient des volumes tumoraux significativement plus faibles, une activité plus importante de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (CAT), une réduction du VEGF et une augmentation des quantités d'endostatine.

L'huile végétale de *Nigella sativa* semble donc inhiber la croissance des tumeurs du sein, notamment en améliorant l'activité des enzymes antioxydantes et en interférant avec l'angiogénèse, bien que d'autres études soient encore nécessaires pour mieux éclairer ses autres mécanismes d'implication.

Etant donné que les ROS endommagent les composants cellulaires et finissent par entraîner une instabilité chromosomique accrue et une altération de l'expression des gènes, les enzymes antioxydantes et les nutriments sont indispensables pour la protection de ces derniers. La famille de la superoxyde dismutase, dans les cellules exposées à l'oxygène, a joué un rôle clé en piégeant les anions superoxydes et une déficience dans cette famille serait associée à divers cancers.

Les patients souffrant de tumeur cérébrale ont présenté des taux de SOD inférieurs. Une substance dérivée de la SOD a diminué la progression de la tumeur en éliminant les anions superoxydes. La SOD facilite la suppression des tumeurs dans les lignées cellulaires de cancers de la prostate et du sein humains. Il est suggéré que l'activité réduite des CAT chez les souris affectés soit associée à des quantités intracellulaires de peroxyde d'hydrogène plus élevées, ce qui entraîne des lésions de l'ADN et la progression de la tumeur. La masse cancéreuse ne croît pas de plus de 1 à 2 mm<sup>3</sup> sauf si ses besoins sont satisfaits par un apport de sang privé. La dépendance des tumeurs par l'angiogénèse était remarquablement indiquée dans une expérience de 1971. L'angiogénèse est contrôlée avec une extrême prudence par divers facteurs, dont le VEGF est considéré comme le principal facteur pro-angiogénique. En 1996, des souris déficientes en VEGF sont décédées vers le 9<sup>ème</sup> jour de gestation pour une angiogénèse entravée ou altérée.

Le VEGF serait également exprimé chez 60% des patientes atteintes d'un cancer du sein. Il stimule la sécrétion de protéases par les cellules endothéliales, qui mobilisent une grande partie des facteurs mitogènes et des facteurs anti-apoptotiques stockés dans la matrice extracellulaire. Le traitement des tumeurs vascularisées chez la souris avec des anticorps anti-VEGF ont considérablement réduit le diamètre et la perméabilité des vaisseaux tumoraux. Parmi les facteurs antiangiogéniques endogènes, l'endostatine est considérée comme très actif et inhiberait divers gènes impliqués dans le cycle cellulaire, l'anti-apoptose et la mitose afin d'inhiber la prolifération et la migration des cellules endothéliales.

L'endostatine a inhibé la croissance tumorale et a provoqué la régression de la tumeur chez les souris atteintes d'un carcinome du pancréas dans une étude antérieure. Dans une expérience,

des cellules tumorales du foie de souris traitées par un gène contenant le gène de l'endostatine murine ont été injectées par voie sous-cutanée ou intrapéritonéale et les tumeurs résultantes étaient 80 fois plus petites que les tumeurs témoins. En outre, le taux de survie des souris traitées était nettement supérieur à celui du groupe témoin. Les principaux mécanismes de l'endostatine comprennent l'inhibition du récepteur du VEGF, la régulation négative du VEGF, l'inhibition de la perte d'adhérence endothéliale du VEGFtrigger, l'inhibition des métalloprotéinases matricielles, l'arrêt des cellules endothéliales par G1 et la suppression de l'expression de HIF-1 $\alpha$ . On signale que les ROS activent le VEGFR2 et surexpriment le VEGF, ce qui entraîne par conséquent une angiogénèse.

Par conséquent, par son effet antioxydant, NS exerce indirectement des effets antiangiogéniques. De plus, la TQ et l'huile végétale de NS inhibent également directement l'angiogénèse. La TQ inactive STAT-3 et régule à la baisse l'expression de la FAK, responsable de la réduction du VEGF et de l'inhibition des métastases. Les voies Akt et Erk, deux voies de signalisation principales vers l'angiogénèse, seraient également supprimées par le composant dérivé de la NS. Il a été démontré que les cellules endothéliales étaient plus sensibles à la TQ que les cellules tumorales. L'étude actuelle a indiqué que l'huile végétale de NS peut exercer des effets antitumoraux à une dose élevée de 4 ml / kg / jour en améliorant les enzymes antioxydantes, en augmentant la production d'endostatine et en inhibant le VEGF. À une faible dose de 1 ml / kg / jour, il a été démontré qu'il favorisait la croissance de la tumeur, probablement en raison de sa richesse en acides gras et en graisses alimentaires, augmentant ainsi le risque de cancer.

Nous suggérons qu'à faibles doses, le TQ dans l'huile végétale ne parvienne pas à contrecarrer les effets des acides gras, mais que les composants bioactifs de l'huile peuvent très bien défier l'impact des acides gras à des doses plus élevées. À ce jour, il n'ya pas eu d'expérience concernant l'endostatine et l'effet de NS ou de TQ et cette étude est la première à rapporter un tel aspect de l'utilisation de NS. Cette étude a indiqué qu'un prétraitement avec une dose élevée d'huile végétale de NS pendant 4 mois avait entraîné une réduction significative du volume des tumeurs, peut-être par une augmentation de l'activité de la SOD et de la CAT, ainsi que par une diminution des taux de VEGF et des quantités élevées d'endostatine.

#### **4. TOXICITE DE *Nigella sativa* L.**

- **Effets secondaires et précautions d'emplois** (114) (115) (116)

Entre 1970 et 2003, environ 530 études ont été menées sur *Nigella sativa* et 3,4% seulement se préoccupent de sa toxicité. Les gens la consomment généralement à faible dose en raison d'un effet inconnu à forte dose.

Une étude menée en 2003 en Malaisie visait à déterminer l'effet toxique de la consommation de graines de *Nigella sativa* à différentes doses sur la fonction hépatique du rat. Le foie contient des enzymes qui aident le corps à métaboliser les substances toxiques. Par conséquent, une dose élevée de *Nigella sativa* pourrait causer des lésions au tissu hépatique, ce qui peut être évalué en mesurant plusieurs niveaux d'enzymes hépatiques et en interprétant l'examen microscopique du tissu hépatique après avoir reçu un supplément de *Nigella sativa* pendant 28 jours. Les graines de *Nigella sativa* (importées d'Inde) ont été achetées en Malaisie. Après avoir nettoyé les graines et les avoir séchées, les graines ont été broyées en poudre et administrées à différentes doses, notamment 0,01 (faible dose), 0,1 (Dose normale) et 1 (dose élevée) g / kg de poids corporel. La présente étude visait à examiner l'effet de toxicité de *Nigella sativa* sur la fonction hépatique en évaluant l'alanine aminotransférase (ALAT), l'aspartate aminotransférase (AST) et les modifications histopathologiques du foie. L'ALAT est une enzyme normalement présente dans les cellules du foie et du coeur. Lorsque le foie ou le cœur est endommagé, le taux d'ALAT dans le sang augmente, ce qui indique une atteinte hépatique ou cardiaque. Au cours d'une lésion hépatocellulaire, les enzymes qui sont normalement situées dans le cytosol sont libérées dans le flux sanguin. L'ALAT et l'AST sont utilisés pour évaluer l'intégrité hépatocellulaire du tissu hépatique. L'ALAT se trouve principalement dans le foie, tandis que l'AST se trouve normalement en quantités égales dans le foie, le cœur, les muscles, les reins et le cerveau. Par conséquent, l'ALAT est plus spécifique du foie que l'AST.

Une étude biochimique a montré que les doses du traitement avec *Nigella sativa* (faible dose, 0,01 g / kg de poids corporel, dose normale, 0,1 g / kg de poids corporel et dose élevée, 1,0 g / kg de poids corporel) réduisaient les enzymes hépatiques (ALAT et AST) chez les rats traités par rapport au groupe contrôle de rats. Cependant, il n'y avait pas de différence significative entre les doses. L'étude montre que la supplémentation de *Nigella sativa* dans le régime alimentaire de rats pendant 28 jours ne modifiait pas les paramètres biochimiques de la

fonction hépatique, ni les examens histopathologiques illustrant l'architecture normale du foie. Cela est prouvé par aucun changement significatif des taux sériques d'ALAT et d'AST dans le groupe sous traitement par rapport au groupe témoin. L'absence de condition pathologique du tissu hépatique dans l'évaluation histologique a confirmé le résultat. Cette étude a également révélé que le poids corporel des rats de tous les groupes est maintenu au cours de l'expérience, ce qui indique un état de santé des animaux. En conséquence, l'administration orale de poudre de graines de *Nigella sativa* n'a montré aucun changement significatif dans la fonction hépatique, ni en ce qui concerne le taux d'enzymes hépatiques, ni des modifications histopathologiques du tissu hépatique.

Cette étude a montré que l'administration orale de *Nigella sativa* n'avait aucune toxicité aux doses utilisées. La dose de *Nigella sativa* jusqu'à 1,0 g / kg de poids corporel ne présentait pas de lésions hépatocellulaires ni de maladie obstructive hépatobiliaire et ne causait pas de toxicité hépatique. De plus, l'examen histopathologique a montré une très légère dégénérescence graisseuse dans les voies portales lors de doses normales (0,1 g / kg) et élevées (1,0 g / kg de poids corporel) de *Nigella sativa* pendant 28 jours. Il n'y a pas de vacuolisation hépatique, de dégénérescence, d'inflammation et de nécrose dans les tissus du foie. Par conséquent, il est suggéré qu'il n'existe aucun effet toxique sur la fonction hépatique de *Nigella sativa* à des doses différentes pendant 4 semaines.

En conclusion, la consommation de *Nigella sativa* en poudre chez l'homme n'a pas provoqué d'effet toxique sur la fonction hépatique et peut être consommée sans danger (114).

Bien que l'huile végétale de *Nigella sativa* soit largement utilisée en médecine traditionnelle et en gastronomie, à notre connaissance, sa toxicité n'a pas été étudiée sérieusement. Par conséquent, une étude menée en 2002 au Maroc a permis d'évaluer les effets de toxicité aiguë et chronique de l'huile végétale de graines de *Nigella sativa*, chez la souris et le rat.

Des études de toxicité aiguë ont été menées chez des souris âgées de 8 à 10 semaines et pesant 20 à 22 g chacune, en une dose unique, administrée par voie orale ou intrapéritonéale. Soixante-dix souris, divisées en sept groupes, ont été conçues pour l'étude de la toxicité aiguë via la voie orale. Chaque groupe de 10 souris (5 mâles et 5 femelles) a reçu respectivement une dose orale unique de 10, 15, 20, 25, 30, 40 ou 50 ml / kg de poids corporel d'huile végétale de *Nigella sativa*. Soixante-dix autres souris divisées en 7 groupes ont été utilisées pour étudier la toxicité par voie intrapéritonéale. Chaque groupe a reçu respectivement une

dose unique de 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4 ou 6 ml / kg de poids corporel d'huile de *Nigella sativa*, préparée dans de la gomme arabique (5%).

Ensuite, des études sur la toxicité chronique ont été mené sur 24 rats Wistar pesant 200 g chacun qui ont été divisés en 2 groupes de 12 rats chacun. Les rats du groupe témoin (rats T) et les rats du groupe traités avec *Nigella sativa* (rats Ns) ont reçu, respectivement, 2 ml / kg de poids corporel d'eau distillée et d'huile végétale de *Nigella sativa* par voie orale pendant 12 semaines. Le choix des doses utilisées étaient basées sur les valeurs de DL50 (quantité de *Nigella sativa*, administrée en une seule fois, qui cause la mort de 50 % (la moitié) d'un groupe d'animaux d'essai). Les doses n'ont entraîné aucune mortalité pendant le traitement.

La présente étude a montré une faible toxicité de l'huile végétale de *Nigella sativa*. Les valeurs élevées de doses létales par voie orale et intrapéritonéale d'huile végétale de *Nigella sativa* (valeur DL50 = 28,8 ml / kg de poids corporel, p.o. ; valeur DL50 = 2,06 ml / kg de poids corporel, i.p.) montrent sa faible toxicité aiguë. La stabilité des enzymes hépatiques et l'intégrité des organes pendant et après 12 semaines de traitement quotidien montrent sa faible toxicité chronique. Aucun signe de toxicité vis-à-vis de l'huile de *Nigella sativa* n'a été observé. Les concentrations d'enzymes hépatiques n'ont pas changé significativement, alors que le glucose sérique, les triglycérides et les taux de cholestérol ont diminué de manière significative, contrairement à la concentration en HDL qui a augmenté significativement chez l'animal (50).

L'huile végétale de *Nigella sativa*, comme les fibrates, diminue le cholestérol et les triglycérides sériques et améliore le taux de HDL sérique. Les fibrates agissent par le biais de l'activation du récepteur  $\alpha$  activé par le peroxydome (Torra, 2001). Les mêmes résultats ont été obtenus en utilisant la troglitazone, un agent hypoglycémique qui améliore la résistance à l'insuline et l'hyperinsulinémie (Khoursheed, 1995). Les rats traités avec *Nigella sativa* avaient un poids corporel significativement inférieur à celui des rats témoins. Ces effets pourraient être liés à l'action de *Nigella sativa* sur le métabolisme des lipides. Cet effet s'est accompagné de modifications concomitantes des taux plasmatiques d'insuline, qui pourraient suggérer un mécanisme d'action induit par l'insuline.

L'huile végétale de *Nigella sativa* présente un effet analgésique et sédatif, ce qui peut expliquer l'attitude calme et la sédation consécutives à l'administration d'huile végétale chez la souris et le rat. Des modifications hématologiques ont été observées chez les rats traités (rats Ns) avec *Nigella sativa*. L'étude montre une augmentation significative de la concentration en

hémoglobine, associée à une augmentation de l'hématocrite, du volume globulaire moyen et de la concentration corpusculaire moyenne de l'hémoglobine, ainsi qu'une diminution significative du nombre de leucocytes et de plaquettes.

Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour élucider les mécanismes précis des différentes actions de l'huile végétale de *Nigella sativa*.

En conclusion, la faible toxicité de l'huile végétale de *Nigella sativa*, la stabilité des enzymes hépatiques et l'intégrité des organes, suggère une marge de sécurité importante pour les doses thérapeutiques d'huile végétale de *Nigella sativa*, mais les changements dans le métabolisme de l'hémoglobine et la chute du nombre de leucocytes et de plaquettes doit être pris en considération.

Par ailleurs, il est stipulé dans le livre du Docteur Bassima SAIDI **La graine de Nigelle : Remède sacré ou sacré remède** (4) qu'il ne faut pas confondre *Nigella sativa* avec *Nigella damascena* dont les graines sont particulièrement toxiques. De plus, il est déconseillé aux femmes enceintes et aux enfants de moins de 7 ans de consommer de l'huile de graine de Nigelle. Etant donné, l'absence d'information sur l'hypothèse d'une probable irritation de la peau en cas de terrain allergique, il est conseillé de réaliser des tests au préalable. Une consommation journalière de 500 à 750 mg semble suffisante sur des périodes de courte durée en attendant des nouvelles recherches.

- **Intéactions médicamenteuses** (117) (118) (119)

Un certain nombre d'études ont signalé des interactions médicamenteuses de plantes médicinales avec le cytochrome P450 (Huang et Lesko, 2004), dont certaines (le millepertuis) inhibent l'activité métabolique du CYP2D dans les cultures primaires d'hépatocytes humains (Hellum, Nilsen 2007). Parmi les six enzymes CYP humaines, le CYP2D se classe au deuxième rang après le CYP3A4 en termes de nombre de médicaments dont il facilite la biotransformation. Les classes de médicaments dont le profil pharmacocinétique est dicté par le CYP2D comprennent les antidépresseurs, les antipsychotiques, les antagonistes des récepteurs, les analgésiques et les agents antiarythmiques (Ingelman-Sundberg, 2005). L'inhibition des enzymes métabolisant les médicaments peut entraîner une augmentation des concentrations plasmatiques des médicaments administrés en même temps, afin de prolonger les effets pharmacologiques et d'accroître la toxicité des médicaments.

Actuellement, aucune information n'est disponible concernant les effets de *Nigella sativa* sur l'expression de l'ARNm et l'activité métabolique du gène CYP2D. Une étude menée en 2014 en Arabie saoudite avait pour objectif d'examiner l'effet de certaines plantes médicinales couramment utilisées sur la régulation de l'expression du gène CYP2D chez le rat et sur son activité métabolique. Des rats Wistar albinos ont été traités pendant sept jours consécutifs avec des doses sélectionnées de cinq plantes couramment utilisées (*Trigonella foenum-graecum*, *Ferula asafoetida*, *Nigella sativa*, *Commiphora myrrha* et *Lepidium sativum*). Ensuite, les foies de rat ont été prélevés et les niveaux d'ARNm de CYP2D ont été déterminés par RT-PCR. L'activité métabolique du CYP2D a été évalué sur des microsomes hépatiques de rat en utilisant du dextrométhorphanne comme substrat spécifique. Toutes les plantes étudiées ont montré une inhibition de l'expression de l'ARNm et de l'activité métabolique du CYP2D. Le potentiel inhibiteur des plantes étudiées sur l'ARNm du CYP2D de rat était dans l'ordre suivant : *Commiphora myrrha* > *Nigella sativa* > *Lepidium sativum* > *Trigonella foenum-graecum* > *Ferula asafoetida*.

L'effet d'inhibition des plantes sur l'activité des enzymes médiées par le CYP2D a été trouvé dans l'ordre suivant : *Nigella sativa* ≥ *Lepidium sativum* > *Trigonella foenum-graecum* > *Commiphora myrrha* > *Ferula asafoetida*.

Cette étude montre que les plantes réduisent l'activité du CYP2D de microsomes du foie de rat au niveau de la transcription. De tels effets pourraient entraîner des effets pharmacologiques indésirables sur les substrats du CYP2D à faible indice thérapeutique utilisés cliniquement (tamoxifène, métoprolol, flécaïnide...).

## CONCLUSION

*Nigella sativa* L., connue sous le nom de Cumin noir, est une plante traditionnelle utilisée depuis des siècles à des fins médicinales et culinaires tout particulièrement dans les pays arabes et asiatiques.

Depuis quelques années, l'engouement pour cette plante ne cesse d'augmenter, ce qui, entraîne la publication de nombreux travaux consacrés à *Nigella sativa* afin d'apporter des preuves scientifiques de ses propriétés thérapeutiques. Ces travaux ont particulièrement porté sur l'étude de sa composition chimique et, ses multiples propriétés pharmacologiques.

La partie de la plante la plus utilisée en thérapeutique est la graine contenant à la fois une huile grasse (plus de 30%) et une huile essentielle (environ 0,4%). Les principaux acides gras saturés présents dans la graine sont les acides palmitique (C16 : 0), stéarique (C18 : 0) et hénéicosanoïque (C21 : 0) ; alors que les acides linoléique (C18 : 2n-6) et oléique (C18 : 1n-9) représentent globalement les principaux acides gras insaturés. Par ailleurs, le Cumin noir est constitué de stérols dont les principaux sont le  $\beta$ -sitostérol, le stigmastérol, le campestérol et le A5-avénastérol. La présence de  $\beta$ -sitostérol dans l'huile végétale de *Nigella sativa* confère des propriétés d'absorption du cholestérol alimentaire. *Nigella sativa* renferme également des acides aminés (principaux acides aminés : l'acide glutamique, l'arginine, l'acide aspartique, la leucine et la glycine) et des vitamines (Vitamine B1 (Thiamine), B2 (Riboflavine), B6 (Pyridoxine), B9 (Acide folique) et PP (Niacine)). Elle contient des éléments minéraux tel que le potassium qui est l'élément prédominant dans les graines suivi par le phosphore, puis le sodium et le fer. Mais le composant principal responsable de la plupart des propriétés thérapeutiques de *Nigella sativa* est un monoterpène oxygéné, la thymoquinone. On peut citer la présence de polyphénols tel que l'acide vanillique ayant une activité anti-oxydante.

Bien que les mécanismes d'action de *Nigella sativa* soient encore mal connus, on peut affirmer que la plupart des propriétés pharmacologiques de *Nigella sativa* résultent de son activité anti-oxydante. L'effet anti-inflammatoire provient de l'inhibition de la production de NO et des voies de la cyclooxygénase et de la 5-lipoxygénase dans le métabolisme de l'acide arachidonique. Les propriétés anti-diabétiques résultent d'une prolifération des cellules  $\beta$  du pancréas et d'une augmentation de la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose, atténuant

ainsi la progression du diabète. Les propriétés hypolipémiantes de la plante sont dûs à 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 contribuant à la réduction du taux de cholestérol sérique. Les effets antihypertenseurs de *Nigella Sativa* (NS) relèvent de plusieurs mécanismes impliqués dans la réduction de la pression artérielle, le blocage des canaux calciques, et l'effet diurétique. L'effet anti-ulcérogène de NS peut être attribué à son effet anti-oxydant en raison d'une augmentation de la teneur en mucine de la muqueuse gastrique, ou de la présence de substances piégeant les radicaux libres telles que la thymoquinone. La thymoquinone possède un potentiel anti-tumoral de part la régulation positive de l'expression de l'ARNm des gènes apoptotiques (p53, caspase-3, caspase-9 et Bax) et la régulation négative des gènes anti-apoptotique Bcl-2.

Les études toxicologiques confirment une absence de toxicité aux doses thérapeutiques, mais les changements dans le métabolisme de l'hémoglobine et la chute du nombre de leucocytes et de plaquettes doivent être pris en considération. De plus, il est déconseillé aux femmes enceintes et aux enfants de moins de 7 ans de consommer de l'huile de graine de Nigelle. Etant donné, l'absence d'information sur l'hypothèse d'une probable irritation de la peau en cas de terrain allergique, il est conseillé de réaliser des tests au préalable.

Le large spectre d'activité de *Nigella sativa* devrait susciter l'attention des chercheurs afin d'élucider les mécanismes d'actions des différents composés des graines et proposer un médicament à base de plantes à part entière.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Cumin noir - *Nigella sativa* [Internet]. [cité 2 janv 2018]. Disponible sur: <http://www.plantes.ca/fleurs/famille/nigella-sativa.html>
2. Moussaoui M. La nigelle. Ed. Sabil; 2014.
3. Benhaddou Andaloussi A. Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa*: sites d'action cellulaires et moléculaires. 2010;
4. Saidi B. La Graine de nigelle: remède sacré ou sacré remède ? Habba Sawda. Paris: Ed. Iqra Ed. Les Quatre Sources; 2010.
5. Carte de la Mésopotamie et du croissant fertile [Internet]. [cité 14 janv 2018]. Disponible sur: [http://images.recitus.qc.ca/main.php?g2\\_itemId=4177&g2\\_imageViewsIndex=1](http://images.recitus.qc.ca/main.php?g2_itemId=4177&g2_imageViewsIndex=1)
6. tablette d'argile plante mesopotamie - Recherche Google [Internet]. [cité 14 janv 2018]. Disponible sur: [https://www.google.fr/search?q=tablette+d%27argile+plante+mesopotamie&safe=active&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjW2OX3xdfYAhWGMlQKHS2CAzoQ\\_AUICigB&biw=1280&bih=694#imgrc=ui-i2PMecw-Z5M](https://www.google.fr/search?q=tablette+d%27argile+plante+mesopotamie&safe=active&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjW2OX3xdfYAhWGMlQKHS2CAzoQ_AUICigB&biw=1280&bih=694#imgrc=ui-i2PMecw-Z5M):
7. Ghedira K. La nigelle cultiv'ée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) Cultivated black cumin: *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie*. 1 déc 2006;4(5):220.
8. Karrandou A. La Nigelle, une panacée peu connue en Occident [Thèse d'exercice]. [France]: Université de Bourgogne; 2016.
9. Botnick I, Xue W, Bar E, Ibdah M, Schwartz A, Joel DM, et al. Distribution of Primary and Specialized Metabolites in *Nigella sativa* Seeds, a Spice with Vast Traditional and Historical Uses. *Molecules*. 24 août 2012;17(9):10159-77.
10. Plinio Segundo C. Histoire naturelle / [Internet]. Paris ;; 1848. Disponible sur: <http://hdl.handle.net/2027/ucm.4900588465>
11. Claude Galien. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 14 janv 2018]. Disponible sur: [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Claude\\_Galien&oldid=144471406](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Claude_Galien&oldid=144471406)

12. Hippocrate. In: Wikipédia [Internet]. 2017 [cité 14 janv 2018]. Disponible sur:  
<https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Hippocrate&oldid=142717630>
13. Dioscoride. In: Wikipédia [Internet]. 2017 [cité 14 janv 2018]. Disponible sur:  
<https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Dioscoride&oldid=143309261>
14. ibn sina - Recherche Google [Internet]. [cité 14 janv 2018]. Disponible sur:  
[https://www.google.fr/search?biw=1280&bih=694&tbm=isch&sa=1&ei=p5hbWsmwJNDVwQLJs7iYDg&q=ibn+sina&oq=ibn+sina&gs\\_l=psy-ab.3..0i67k1j019.1887.5178.0.5794.8.5.2.1.1.0.180.480.2j2.4.0...0...1c.1.64.psy-ab..1.7.535....0.80GKb7UD5uU#imgrc=VpJjHtBpHB\\_4-M:](https://www.google.fr/search?biw=1280&bih=694&tbm=isch&sa=1&ei=p5hbWsmwJNDVwQLJs7iYDg&q=ibn+sina&oq=ibn+sina&gs_l=psy-ab.3..0i67k1j019.1887.5178.0.5794.8.5.2.1.1.0.180.480.2j2.4.0...0...1c.1.64.psy-ab..1.7.535....0.80GKb7UD5uU#imgrc=VpJjHtBpHB_4-M:)
15. pain-algerien---khobz-dar--pain-algr-rien-au-four\_4.jpg (1024×683) [Internet]. [cité 14 janv 2018]. Disponible sur: [http://a398.idata.over-blog.com/4/16/08/28/API/2012-06/18/pain-algerien---khobz-dar--pain-algr-rien-au-four\\_4.jpg](http://a398.idata.over-blog.com/4/16/08/28/API/2012-06/18/pain-algerien---khobz-dar--pain-algr-rien-au-four_4.jpg)
16. Flore française, ou description synoptique de toutes les plantes phanérogames et cryptogames qui croissent naturellement sur le sol français ... par J.A. Boissier [Internet]. [cité 22 janv 2018]. Disponible sur:  
[https://books.google.com/books/about/Flore\\_francaise\\_ou\\_description\\_synoptiqu.html?hl=fr&id=PY\\_50qXBJwAC](https://books.google.com/books/about/Flore_francaise_ou_description_synoptiqu.html?hl=fr&id=PY_50qXBJwAC)
17. Angiosperme. In: Wikipédia [Internet]. 2017 [cité 23 janv 2018]. Disponible sur:  
<https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Angiosperme&oldid=143796040>
18. Ghedira K. La nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie*. 1 déc 2006;4(5):220.
19. e450d340d5d8d6069ec053ede2b417d3.jpg (780×585) [Internet]. [cité 23 janv 2018].  
Disponible sur:  
<https://i.pinimg.com/originals/e4/50/d3/e450d340d5d8d6069ec053ede2b417d3.jpg>
20. Photo gratuite: Fleur, *Nigella Sativa*, Plante - Image gratuite sur Pixabay - 1695802 [Internet]. [cité 23 janv 2018]. Disponible sur: [https://pixabay.com/p-1695802/?no\\_redirect](https://pixabay.com/p-1695802/?no_redirect)
21. Charles DJ. *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. Springer; 2014.

22. Gholamnezhad Z, Havakhah S, Boskabady MH. Preclinical and clinical effects of *Nigella sativa* and its constituent, thymoquinone: A review. *J Ethnopharmacol.* 22 août 2016;190(Supplement C):372-86.
23. Toparslan C. *Avec nigella sativa: l'étonnant cumin noir.* Bruxelles: Editions Amyris; 2017.
24. Al-Jassir MS. Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa L.*) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chem.* 1 janv 1992;45(4):239-42.
25. Benkaci-Ali F, Baaliouamer A, Wathelet JP, Marlier M. Chemical composition and physicochemical characteristics of fixed oils from algerian *Nigella sativa* seeds. *Chem Nat Compd.* 1 janv 2012;47(6):925-31.
26. Cheikh-Rouhou S, Besbes S, Lognay G, Blecker C, Deroanne C, Attia H. Sterol composition of black cumin (*Nigella sativa L.*) and Aleppo pine (*Pinus halepensis Mill.*) seed oils. *J Food Compos Anal.* 1 mars 2008;21(2):162-8.
27. Nergiz C, Ötleş S. Chemical composition of *Nigella sativa L.* seeds. *Food Chem.* 1 janv 1993;48(3):259-61.
28. El Harake B, Élias R. *Contribution à l'étude de Nigella sativa L.* [S.l.]: s.n.; 2011.
29. Piras A, Rosa A, Marongiu B, Porcedda S, Falconieri D, Dessì MA, et al. Chemical composition and in vitro bioactivity of the volatile and fixed oils of *Nigella sativa L.* extracted by supercritical carbon dioxide. *Ind Crops Prod.* 1 avr 2013;46:317-23.
30. Botnick I, Xue W, Bar E, Ibdah M, Schwartz A, Joel DM, et al. Distribution of Primary and Specialized Metabolites in *Nigella sativa* Seeds, a Spice with Vast Traditional and Historical Uses. *Molecules.* 24 août 2012;17(9):10159-77.
31. Orsi-Llinares F. *La nigelle, une épice d'intérêt médicinal.* HAL CCSD; 2006.
32. Bourgou S, Ksouri R, Bellila A, Skandrani I, Falleh H, Marzouk B. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa L.* shoots and roots. *C R Biol.* 1 janv 2008;331(1):48-55.

33. BOURGOU S, PICHETTE A, MARZOUK B, LEGAULT J. ANTIOXIDANT, ANTI-INFLAMMATORY, ANTICANCER AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF EXTRACTS FROM *NIGELLA SATIVA* (BLACK CUMIN) PLANT PARTS. *J Food Biochem.* 1 oct 2012;36(5):539-46.
34. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res.* 1 août 2000;14(5):323-8.
35. Ismail M, Al-Naqeep G, Chan KW. *Nigella sativa* thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats. *Free Radic Biol Med.* mars 2010;48(5):664-72.
36. Majdalawieh AF, Fayyad MW. Immunomodulatory and anti-inflammatory action of *Nigella sativa* and thymoquinone: A comprehensive review. *Int Immunopharmacol.* 1 sept 2015;28(1):295-304.
37. Chehl N, Chipitsyna G, Gong Q, Yeo CJ. Anti-inflammatory effects of the *Nigella sativa* seed extract, thymoquinone, in pancreatic cancer cells. *HPB.* 1 août 2009;11(5):373-81.
38. El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lember N, Ammon HPT. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *J Ethnopharmacol.* 2002;81(2):161-4.
39. Pise HN, Padwal SL. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Nigella sativa*: An experimental study. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol.* 1 janv 2017;7(7):707.
40. Al-Ghamdi MS. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *J Ethnopharmacol.* 1 juin 2001;76(1):45-8.
41. Mahgoub AA. Thymoquinone protects against experimental colitis in rats. *Toxicol Lett.* 2003;143(2):133-43.
42. Duncker SC, Philippe D, Martin-Paschoud C, Moser M. *Nigella sativa* (black cumin) seed extract alleviates symptoms of allergic diarrhea in mice, involving opioid receptors. *PLoS One.* 2012;7(6):e39841.

43. Yousefi M, Barikbin B, Kamalinejad M, Abolhasani E. Comparison of therapeutic effect of topical *Nigella* with Betamethasone and Eucerin in hand eczema. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 1 déc 2013;27(12):1498-504.
44. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res*. 1 avr 2003;17(4):299-305.
45. Majdalawieh AF, Fayyad MW. Immunomodulatory and anti-inflammatory action of *Nigella sativa* and thymoquinone: A comprehensive review. *Int Immunopharmacol*. 1 sept 2015;28(1):295-304.
46. Majdalawieh AF, Hmaidan R, Carr RI. *Nigella sativa* modulates splenocyte proliferation, Th1/Th2 cytokine profile, macrophage function and NK anti-tumor activity. *J Ethnopharmacol*. 2010;131(2):268-75.
47. Haq A, Abdullatif M, Lobo PI, Khabar KSA, Sheth KV, Al-Sedairy ST. *Nigella sativa*: effect on human lymphocytes and polymorphonuclear leukocyte phagocytic activity. *Immunopharmacology*. 1 août 1995;30(2):147-55.
48. Haq A, Lobo PI, Al-Tufail M, Rama NR, Al-Sedairy ST. Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography. *Int J Immunopharmacol*. 1 avr 1999;21(4):283-95.
49. Salem ML, Hossain MS. Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *Int J Immunopharmacol*. 1 sept 2000;22(9):729-40.
50. Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoui K, Amarouch H, Hassar M. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine*. 1 janv 2002;9(1):69-74.
51. Fararh KM, Atoji Y, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Takewaki T. Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa L.* oil in streptozotocin-induced diabetic hamsters. *Res Vet Sci*. 1 oct 2004;77(2):123-9.
52. Islam SN, Begum P, Ahsan T, Huque S, Ahsan M. Immunosuppressive and cytotoxic properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res PTR*. mai 2004;18(5):395-8.

53. Onifade AA, Jewell AP, Adedeji WA. *Nigella sativa* concoction induced sustained seroreversion in HIV patient. *Afr J Tradit Complement Altern Med AJTCAM*. 2013;10(5):332-5.
54. Usman RA, Idris MM, Makinde SA. Antibacterial activity of *Nigella sativa* seed extracts. *Bayero J Pure Appl Sci*. 24 janv 2018;10(1):328.
55. BOURGOU S, PICHETTE A, MARZOUK B, LEGAULT J. ANTIOXIDANT, ANTI-INFLAMMATORY, ANTICANCER AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF EXTRACTS FROM NIGELLA SATIVA (BLACK CUMIN) PLANT PARTS. *J Food Biochem*. 1 oct 2012;36(5):539-46.
56. Gholamnezhad Z, Havakhah S, Boskabady MH. Preclinical and clinical effects of *Nigella sativa* and its constituent, thymoquinone: A review. *J Ethnopharmacol*. 22 août 2016;190:372-86.
57. Hanafy MSM, Hatem ME. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *J Ethnopharmacol*. 1991;34(2):275-8.
58. Shokri H. A review on the inhibitory potential of *Nigella sativa* against pathogenic and toxigenic fungi. *Avicenna J Phytomedicine*. 1 janv 2016;6(1):21-33.
59. El Ons Hassouna M. Antibacterial and antifungal activity of *Nigella sativa* L essential oil. *Clin Oral Implants Res*. 1 oct 2018;29:221.
60. Biological activities of *Boswellia sacra* extracts on the growth and aflatoxins secretion of two aflatoxigenic species of *Aspergillus* species - ScienceDirect [Internet]. [cité 4 sept 2018]. Disponible sur: <https://www-sciencedirect-com.lama.univ-amu.fr/science/article/pii/S0956713513003228>
61. Forouzanfar F, Bazzaz BS, Hosseinzadeh H. Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects., Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects. *Iran J Basic Med Sci Iran J Basic Med Sci*. déc 2014;17, 17(12, 12):929, 929-38.
62. Aqil K, Khan M-R, Aslam A, Javeed A. In vitro Antiviral Activity of *Nigella sativa* against Peste des Petits Ruminants (PPR) Virus. *Pak J Zool*. 1 déc 2018;50(6).

63. Umar S, Munir MT, Subhan S, Azam T. WITHDRAWN: Protective and antiviral activities of *Nigella sativa* against avian influenza (H9N2) in turkeys. J Saudi Soc Agric Sci. 1 sept 2016;
64. Effects of *Nigella sativa* on outcome of hepatitis C in Egypt - Europe PMC Article - Europe PMC [Internet]. [cité 13 sept 2018]. Disponible sur: <http://europepmc.org/articles/PMC3646144?sessionid=F372AEEA99CC07FA2B3AC1E50C95F47D?fromSearch=singleResult&fromQuery=ISSN:1007-9327+VOLUME:19+ISSUE:16+SPAGE:2529>
65. Umar S, Munir MT, Subhan S, Azam T, un Nisa Q, Khan MI, et al. Protective and antiviral activities of *Nigella sativa* against avian influenza (H9N2) in turkeys. J Saudi Soc Agric Sci [Internet]. 24 sept 2016 [cité 19 nov 2017]; Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658077X16300340>
66. Aminou HA, Alam-Eldin YH, Hashem HA. Effect of *Nigella sativa* alcoholic extract and oil, as well as Phaseolus vulgaris (kidney bean) lectin on the ultrastructure of Trichomonas vaginalis trophozoites., Effect of *Nigella sativa* alcoholic extract and oil, as well as Phaseolus vulgaris (kidney bean) lectin on the ultrastructure of Trichomonas vaginalis trophozoites. J Parasit Dis Off Organ Indian Soc Parasitol J Parasit Dis Off Organ Indian Soc Parasitol. sept 2016;40, 40(3, 3):707, 707-13.
67. Balbaa M, Abdulmalek SA, Khalil S. Oxidative stress and expression of insulin signaling proteins in the brain of diabetic rats: Role of *Nigella sativa* oil and antidiabetic drugs. PloS One. 2017;12(5):e0172429.
68. Bensiamer-Touati K, Kacimi G, Haffaf E-M, Berdja S, Aouichat-Bouguerra S. In Vivo Subacute Toxicity and Antidiabetic Effect of Aqueous Extract of *Nigella sativa* [Internet]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2017 [cité 26 avr 2018]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2017/8427034/>
69. Al-Logmani A, Zari T. Long-term effects of *Nigella sativa* L. oil on some physiological parameters in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. J Diabetes Mellit. 2011;1(3):46-53.

70. Leong X-F, Mustafa MR, Jaarin K. *Nigella sativa* and Its Protective Role in Oxidative Stress and Hypertension. Evid Based Complement Alternat Med [Internet]. 1 janv 2013 [cité 6 mai 2018];2013. Disponible sur: <https://doaj.org>
71. Taşar N, Şehirli Ö, Yiğiner Ö, Süleymanoğlu S. Protective effects of *Nigella sativa* against hypertension-induced oxidative stress and cardiovascular dysfunction in rats. 7 mars 2014;
72. Zaoui A, Cherrah Y, Alaoui K, Mahassine N, Amarouch H, Hassar M. Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. J Ethnopharmacol. 1 févr 2002;79(1):23-6.
73. Ibrahim RM, Hamdan NS, Mahmud R, Imam MU, Saini SM, Rashid SNA, et al. A randomised controlled trial on hypolipidemic effects of *Nigella Sativa* seeds powder in menopausal women. J Transl Med. 31 mars 2014;12:82.
74. Recent Studies from National University of Science and Technology Add New Data to Hyperlipidemia [Comparative evaluation of *Nigella sativa* and simvastatin for the treatment of hyperlipidemia and in the induction of hepatotoxicity]. Biotech Week. 29 avr 2015;1179.
75. Al-Seeni MN, El Rabey HA, Zamzami MA, Alnefayee AM. The hepatoprotective activity of olive oil and *Nigella sativa* oil against CCl<sub>4</sub> induced hepatotoxicity in male rats. BMC Complement Altern Med. 4 nov 2016;16(1):438.
76. Abdel-Daim MM, Ghazy EW. Effects of *Nigella sativa* oil and ascorbic acid against oxytetracycline-induced hepato-renal toxicity in rabbits. Iran J Basic Med Sci. 1 mars 2015;18(3):221.
77. Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H. Gastroprotective activity of *Nigella sativa L* oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. World J Gastroenterol. 14 nov 2005;11(42):6662-6.
78. Arslan SO, Gelir E, Armutcu F, Coskun O. The protective effect of thymoquinone on ethanol-induced acute gastric damage in the rat. Nutr Res. 2005;25(7):673-80.
79. Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H. Gastroprotective activity of *Nigella sativa L* oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury

in rats., Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. World J Gastroenterol World J Gastroenterol WJG. 14 nov 2005;11, 11(42, 42):6662, 6662-6.

80. Nutrients | Free Full-Text | Role of Nigella sativa and Its Constituent Thymoquinone on Chemotherapy-Induced Nephrotoxicity: Evidences from Experimental Animal Studies [Internet]. [cité 10 mai 2018]. Disponible sur: <http://www.mdpi.com/2072-6643/9/6/625>
81. Yaman İ, Balikci E. Protective effects of nigella sativa against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Exp Toxicol Pathol. 2010;62(2):183-90.
82. Abdel-Fattah A-FM, Matsumoto K, Watanabe H. Antinociceptive effects of Nigella sativa oil and its major component, thymoquinone, in mice. Eur J Pharmacol. 14 juill 2000;400(1):89-97.
83. Abdel-Fattah A-FM, Matsumoto K, Watanabe H. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. Eur J Pharmacol. 2000;400(1):89-97.
84. Velagapudi R, Kumar A, Bhatia HS, El-Bakoush A, Lepiarz I, Fiebich BL, et al. Inhibition of neuroinflammation by thymoquinone requires activation of Nrf2/ARE signalling. Int Immunopharmacol. juill 2017;48:17-29.
85. Wang Y, Gao H, Zhang W, Zhang W, Fang L. Thymoquinone inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators in BV2 microglial cells. Int Immunopharmacol. 1 mai 2015;26(1):169-73.
86. Hosseini M, Zakeri S, Khoshdast S, Yousefian FT, Rastegar M, Vafae F, et al. The effects of Nigella sativa hydro-alcoholic extract and thymoquinone on lipopolysaccharide - induced depression like behavior in rats., The effects of *Nigella sativa* hydro-alcoholic extract and thymoquinone on lipopolysaccharide - induced depression like behavior in rats. J Pharm Bioallied Sci J Pharm Bioallied Sci. sept 2012;4, 4(3, 3):219, 219-25.
87. Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK, Siddique NA, et al. A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. Asian Pac J Trop Biomed. 1 mai 2013;3(5):337-52.

88. Study Findings from Fudan University Broaden Understanding of Neurochemistry (Protective Effects of Thymoquinone Against Convulsant Activity Induced by Lithium-Pilocarpine in a model of Status Epilepticus). *Life Sci Wkly.* 10 janv 2017;8189.
89. Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M. Antiepileptogenic and antioxidant effects of *Nigella sativa* oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. *Neuropharmacology.* 1 sept 2005;49(4):456-64.
90. Thymoquinone produced antianxiety-like effects in mice through modulation of GABA and NO levels. *Pharmacol Rep.* 1 mai 2011;63(3):660-9.
91. Gilhotra N. GABAergic and nitriergic modulation by curcumin for its antianxiety-like activity in mice. *Brain Res.* 2010;1352:167-75.
92. GABAergic and nitriergic modulation by curcumin for its antianxiety-like activity in mice - ScienceDirect [Internet]. [cité 30 oct 2018]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com.lama.univ-amu.fr/science/article/pii/S0006899310015337>
93. Gilhotra N, Jain H, Dhingra D. Differential effects of nitric oxide synthase inhibitors on anxiety in unstressed and stressed mice. *Indian J Exp Biol.* avr 2010;48(4):365-72.
94. The anxiolytic action of benzodiazepines is not present in handling-habituated rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1 nov 1988;31(3):541-6.
95. Chronic brief restraint decreases in vivo binding of benzodiazepine receptor ligand to mouse brain | SpringerLink [Internet]. [cité 30 oct 2018]. Disponible sur: <https://link-springer-com.lama.univ-amu.fr/article/10.1007%2FBF03160025>
96. Haseena S, Aithal M, Das KK, Saheb SH. Phytochemical Analysis of *Nigella sativa* and its Effect on Reproductive System. *J Pharm Sci Res.* 1 août 2015;7(8):514.
97. Parandin R, Yousofvand N, Ghorbani R. The enhancing effects of alcoholic extract of *Nigella sativa* seed on fertility potential, plasma gonadotropins and testosterone in male rats. *Iran J Reprod Med.* 1 juill 2012;10(4):355.
98. Effect of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Nigella sativa* Seeds on Milk Production in Rats - ScienceDirect [Internet]. [cité 22 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com.lama.univ-amu.fr/science/article/pii/S2005290112001239>

99. Bourgou S, Pichette A, Marzouk B, Legault J. Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia. *South Afr J Bot.* 1 avr 2010;76(2):210-6.
100. Latiff LA, Parhizkar S. Supplementary Health Benefits of Linoleic Acid by Improvement of Vaginal Cornification of Ovariectomized Rats. *Adv Pharm Bull.* 1 févr 2013;3(1):31-6.
101. Parhizkar S. Assessing estrogenic activity of *Nigella sativa* in ovariectomized rats using vaginal cornification assay. *Afr J Pharm Pharmacol.* 28 févr 2011;5(2):137-42.
102. Shelley JM, Green A, Smith AMA, Dudley E. Relationship of Endogenous Sex Hormones to Lipids and Blood Pressure in Mid-Aged Women. *Ann Epidemiol.* 1 janv 1998;8(1):39-45.
103. Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE, Ekizoglou S, Doherty C. The maternal endocrine environment in the low-protein model of intra-uterine growth restriction. *Br J Nutr.* 1 oct 2003;90(4):815.
104. Liu M-L, Xu X, Rang W-Q, Li Y-J. Influence of ovariectomy and 17 $\beta$ -estradiol treatment on insulin sensitivity, lipid metabolism and post-ischemic cardiac function. *Int J Cardiol.* 2004;97(3):485-93.
105. Majdalawieh AF, Fayyad MW. Recent advances on the anti-cancer properties of *Nigella sativa*, a widely used food additive. *J Ayurveda Integr Med.* sept 2016;7(3):173-80.
106. Al-Oqail MM, Al-Sheddi ES, Al-Massarani SM, Siddiqui MA, Ahmad J, Musarrat J, et al. *Nigella sativa* seed oil suppresses cell proliferation and induces ROS dependent mitochondrial apoptosis through p53 pathway in hepatocellular carcinoma cells. *South Afr J Bot.* 1 sept 2017;112(Supplement C):70-8.
107. Al-Oqail MM, Al-Sheddi ES, Al-Massarani SM, Siddiqui MA. *Nigella sativa* seed oil suppresses cell proliferation and induces ROS dependent mitochondrial apoptosis through p53 pathway in hepatocellular carcinoma cells. *South Afr J Bot.* 1 sept 2017;112:70-8.

108. Al-Sheddi ES, Farshori NN, Al-Oqail MM, Musarrat J. Cytotoxicity of *Nigella Sativa* Seed Oil and Extract Against Human Lung Cancer Cell Line. *Asian Pac J Cancer Prev.* 30 janv 2014;15(2):983-7.
109. El-Ashmawy NE, Khedr EG, Ebeid E-ZM, Salem ML, Zidan A-AA, Mosalam EM. Enhanced anticancer effect and reduced toxicity of doxorubicin in combination with thymoquinone released from poly-N-acetyl glucosamine nanomatrix in mice bearing solid Ehrlich carcinoma. *Eur J Pharm Sci.* 15 nov 2017;109:525-32.
110. Gholamnezhad Z, Boskabady MH, Hosseini M. Effect of *Nigella sativa* on immune response in treadmill exercised rat. *BMC Complement Altern Med.* 1 janv 2014;14.
111. Bahramian S, Bigdeli\* MR, Rasoulian B. The Antioxidant and Antiangiogenic Effects of Dietary supplement of *Nigella sativa* Crude Oil on Breast Tumor in BALB/c Mice. *Herb Med J.* 5 déc 2016;1(1):1-10.
112. Yi T, Cho S-G, Yi Z, Pang X. Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. *Mol Cancer Ther.* 1 juill 2008;7(7):1789-96.
113. Schneider-Stock R, Fakhoury IH, Zaki AM, El-Baba CO. Thymoquinone: fifty years of success in the battle against cancer models. *Drug Discov Today.* 1 janv 2014;19(1):18-30.
114. Toxicity Effect of *Nigella Sativa* on the Liver Function of Rats [Internet]. OpenAIRE - Explore. [cité 12 janv 2019]. Disponible sur: [https://explore.openaire.eu/search/publication?articleId=dedup\\_wf\\_001::97537537e8e235aa59463f7d49f60932](https://explore.openaire.eu/search/publication?articleId=dedup_wf_001::97537537e8e235aa59463f7d49f60932)
115. Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoui K, Amarouch H, Hassar M. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine.* 1 janv 2002;9(1):69-74.
116. Ameen NMA. Effect of *Nigella sativa* and bee honey on pulmonary, hepatic and renal function in Sudanese in Khartoum state. *J Med Plants Res.* 23 déc 2011;5(31).

117. Al-Jenoobi FI, Korashy HM, Ahad A, Raish M, Al-Mohizea AM, Alam MA, et al. Potential inhibitory effect of herbal medicines on rat hepatic cytochrome P450 2D gene expression and metabolic activity. *Pharm. nov* 2014;69(11):799-803.
118. Gurley BJ, Gardner SF, Hubbard MA, Williams DK. Cytochrome P450 phenotypic ratios for predicting herb-drug interactions in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1 sept 2002;72(3):276-87.
119. Hellum BH, Nilsen OG. The in vitro Inhibitory Potential of Trade Herbal Products on Human CYP2D6-Mediated Metabolism and the Influence of Ethanol. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 1 nov 2007;101(5):350-8.

## ABREVIATIONS

<b>AD</b> : Maladie d'Alzheimer	<b>GSH</b> : Glutathion forme réduite
<b>AGE</b> : Acides gras essentiels	<b>GSH-Px</b> : Glutathion peroxydase
<b>AGL</b> : Acide gamma-linolénique	<b>LCT</b> : Lésion cérébrale traumatique
<b>AGPI</b> : Acides gras polyinsaturés	<b>MCV</b> : Maladie cardio-vasculaire
<b>AL</b> : Acide linoléique	<b>MDA</b> : Malondialdéhyde
<b>ALAT</b> : Alanine amino-transférase	<b>MMP</b> : Potentiel de membrane mitochondriale
<b>ALP</b> : Phosphatase alcaline	<b>MRP</b> : Multirésistance aux médicaments
<b>ALX</b> : Groupes rats « sans alloxane »	<b>NICP</b> : Néphrotoxicité induite par le cisplatine
<b>AqE.NS</b> : Extrait aqueux de <i>Nigella sativa</i>	<b>NRU</b> : Absorption du rouge neutre
<b>ARE</b> : Élément de réponse anti-oxydante	<b>NO</b> : Oxyde nitrique
<b>CAT</b> : Catalase	<b>NS</b> : <i>Nigella sativa</i>
<b>CEE</b> : Oestrogène équin conjugué	<b>NSO</b> : Huile essentielle ou végétale de <i>Nigella sativa</i>
<b>DEP</b> : Polluants atmosphériques	<b>OAT</b> : Transporteurs d'anions organiques
<b>DOX</b> : Doxorubicine	<b>OCT</b> : Transporteurs de cations organiques
<b>DM</b> : Modèle diabétique	<b>PA</b> : Pression artérielle
<b>DNS</b> : Groupe rats diabétique traités avec un extrait aqueux de NS	<b>PAF</b> : Facteur d'activation des plaquettes
<b>FG</b> : Faible en graisses	<b>PD</b> : Maladie de Parkinson
<b>FR</b> : Radicaux libres	<b>PTZ</b> : Pentylènetétrazol
<b>FST</b> : Test de nage forcé	<b>RBBME</b> : Enzyme rénale de la membrane de la brosse rénale
<b>FR</b> : Radicaux libre	<b>ROS</b> : Espèces réactives de l'oxygène
<b>GST</b> : Glutathion-s-transférase	<b>SEC</b> : Groupe carcinome d'Erlich solide

**SMMT** : Tumeur mammaire murine spontanée

**STZ** : Streptozocine

**SOD** : Supéroxyde dismutase

**TA** : Tension artérielle

**TBA** : Acide thiobarbiturique

**TC** : Cholestérol total

**TG** : Triglycérides

**TIR** : Taux d'inhibition de la tumeur

**TQ** : Thymoquinone

**VA** : Valproate

**XO** : Xanthine oxydase

## SERMENT DE GALIEN

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.*