



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية  
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie moléculaire et santé

Intitulé :

---

# Etude de la toxicité des huiles de *Nigella sativa* L

---

Présenté et soutenu par :

Le : 17/06/2015

- Guechiri Alima
- Bouaker Meriem

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Mr. YAOU .A* (Maitre assistant A - UFM Constantine).

Rapporteur : *Melle. MOSBAH .A* (Maitre assistant A- UFM Constantine).

Examineurs : *Melle. DEMMAK .R* (Maitre assistant A- U3 Constantine).

*Année universitaire  
2014 - 2015*

## Sommaire

### *Liste des figures et des tableaux*

### *Liste des abréviations*

*Introduction* ..... 1

## *Partie bibliographique*

### **Chapitre I *Nigella Sativa L***

<i>I. Généralité</i> .....	2
<i>II. La classification on systématique et la description botanique</i> .....	3
<i>II.1. Classification</i> .....	3
<i>II.2. Description botanique</i> .....	4
<i>III. Composition chimique des graines de la plante</i> .....	5
<i>III.1.Composions générale</i> .....	5
<i>III.2. L'huile</i> .....	8
<i>III.2.1.L'huile essentielle</i> .....	8
<i>III.2.2.L'huile fixe</i> .....	9
<i>IV Propriétés pharmacologiques de Nigella Sativa L</i> .....	11
<i>IV.1.L'activité antioxydant</i> .....	11
* <i>Études in vitro</i>	
* <i>Études in vivo</i>	
<i>IV.2. Activité antibactériennes</i> .....	12
<i>IV.3.Activité anti-inflammatoire et analgésique</i> .....	12
<i>IV.4.Activité antidiabétique</i> .....	13
<i>IV. 5.Activité antitumorale</i> .....	13
<i>IV.6.activité hépato-protecteur</i> .....	14
<i>IV.7.Activité sur les reins</i> .....	14

### **Chapitre II *La toxicologie***

<i>I. Introduction</i> .....	15
<i>II .L'effet toxique</i> .....	15
<i>III. Les type de la toxicité</i> .....	16
<i>IV .La toxicocinétique</i> .....	16

---

<i>IV.1.L'absorption</i> .....	17
<i>IV.2.La distribution</i> .....	18
<i>IV.3.La biotransformation</i> .....	18
<i>IV.4.L'excrétion</i> .....	18
<i>V.Les organes cibles</i> .....	18
<i>V.1.Description des manifestations par systèmes biologiques et organescibles</i> .....	19
<i>V.1.1. L'hépatotoxicité</i> .....	19
<i>V.1.2.La néphrotoxicité</i> .....	19
<i>VI.Détermination des paramètres biochimiques</i> .....	19

## ***la partie expérimentale***

### **Chapitre III Matériels Et Méthodes**

<i>I. Matériels</i>	
<i>I.1.Matériels biologiques</i> .....	20
<i>I.2.Le matériel végétale</i> .....	21
<i>I.3.Les produits chimiques</i> .....	22
<i>II.Méthodes</i>	
<i>II.1. Extraction et caractérisation de l'huile de Nigella sativa L</i> .....	22
<i>II.2. Le traitement des animaux</i> .....	23
<i>II.3. La préparation d'animale</i> .....	25
<i>II.4. Le prélèvement sanguin</i> .....	25
<i>II.5.La dissection des animaux</i> .....	27
<i>II.6.Dosage des paramètres biochimiques</i> .....	28
<i>II.6.1. la glycémie</i> .....	28
<i>II.6.2. L'urée</i> .....	28
<i>II.6.3. La créatinine</i> .....	28
<i>II.6.4. Le cholestérol</i> .....	29
<i>II.6.5. Le triglycéride</i> .....	29
<i>II.6.6. L'aspartate aminotransferase ASAT / GOT</i> .....	30
<i>II.6.7. L'aspartate aminotransferase AlAT / GPT</i> .....	30
<i>II.6.8. la phosphatase alcaline PAL</i> .....	31

<i>II.7.Étude histologique</i> .....	32
<i>III. Analyses statistiques</i> .....	37

## ***Chapitre IV    Résultat Et discussion***

<i>I. Caractérisation de l'huile de Nigella sativa L</i> .....	38
<i>II. Les résultats de la variation du poids</i> .....	39
<i>III. Les résultats et discussion des paramètres biochimiques</i> .....	41
<i>IV. Résulta et discussion des coupe histologique</i> .....	44
<b><i>Conclusion</i></b> .....	46

# *Remerciements*

*En préambule à ce mémoire, louange à Allah le tout miséricordieux pour son guide, dans un parcours acharné envers le savoir scientifique et qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail.*

*Nos premiers remerciements vont à tous les professeurs qui nous ont aidés tout au long de notre cursus universitaire en particulier notre encadreur : Mlle MOSBAH ASMA qui nous a conseillé tout le long de ce mémoire pour, sa patience ces remarques avisées.*

*Nous tenons à exprimer Nos vifs remerciements aux membres du jury « Mr. YAOU et Melle. DEMMAK » pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions ,  
Notre chef de département M.NASIB pour sa gentillesse et son dévouement.*

*Nous remercions également l'équipe de travail de laboratoire de biochimie, spécialement NABIL, ZAHRA et le médecin vétérinaire de l'animalerie de biologie KARIMA qui nous ont aidées dans notre travail.*

*Enfin, nous tenons également à remercier notre amies AHLEM et RANDA et pour son aide au travail pratique et tous les personnes qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.*



## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à Dieux tout puissant, pour avoir guidé mes pas pour la réalisation de ce travail.*

*A ma chère mère « **Nouara** » ma source de vie, d'amour et de la tendresse qui est toujours présente et prête à sécher mes larmes.*

*A mon chère père « **Rabeh** » ma sens de l'honneur et de la responsabilité  
Mercie d'avoir toujours avec moi, sans votre amour et votre soutien je ne serais jamais arrivé la ou je suis. je vous aime que Allah vous protège.*

*A mon unique frère **Adel** que je suis fière d'être ta sœur.*

*A mes charmantes sœurs **Samia, Saida, et Amira** et ma nièce **Maram** le signe de notre joie*

*A tous mes amies sans acception surtout les amies d'étude au groupe de master **BMS** de*

*Mon promotion **2014- 2015** Mercie pour les sympathiques  
moments qu'on a passé ensemble.*

*A mon cher binôme **Meriem***

*A tous ceux qui m'aiment et qui ont cru en moi...*

*Asima*



## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à Dieux tout puissant, pour avoir guidé mes pas pour la réalisation de ce travail.*

A mon chère père « **Houcine** » ma sens de l'honneur de la responsabilité

A ma chère mère « **kheira** » ma source de vie, d'amour et de la tendresse qui est toujours présente et prête à sécher mes larmes.

Merci d'avoir toujours avec moi, sans votre amour et votre soutien je ne serais jamais arrivé là ou je suis. je vous aime que Allah vous protège.

A ma petite sœur **Imen**

A mon frère **Moncef**

A ma tante Nacira

A mes amies : Meriem , saliha ,Romi ,Yasmine,Rayene ,Imen-maya O , Kawtar ,Missou , Maya , Ouafa , Oulia , Amina K , Khadidja ,Meriem T , Amira , Imen O , paty , Awatef .

A ma promotion BMS

A mon binôme **ALIMA**

A tous ceux qui m'aiment et qui ont cru en moi...

**MERIEM**

## LISTE DES ABREVIATION :

**AA** : acide aminé

**AAE** : acide aminé essentiel

**AANE** : Acide aminé non essentiel

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**AG** : Acide gras

**ALAT** : alanine amino-transférase

**ASAT** : aspartate transaminase

**COX** : cyclo-oxygénase

**CCL4** : tetra chlorure de carbone

**DL50** : dose létale 50

**DPPH** : 1-1diphényl-2-picrylhydrazyl

**ERO** : espèce réactif de l'oxygène

**FN** : fraction neutre

**GPx** : glutathion superoxyde

**GSH** : glutathion

**HE** : huile totale

**IP** : intra péritonéale

**KBrO3** : bromate de potassium

**LOX** : lipo-oxygénase

**MDA** : malonaldéhyde

**MCMV** : cytomégalo verus murin

**PAL** : phosphatase alcaline

**SOD** : superoxyde dismutase

**t-BHP** : tert-butyle hydroperoxyde

**THO** : thymohydroquinone

**TQ** : thymoquinone



## *Liste des figures*

<i>Figure 1</i> : classification botanique selon Bentham et Hooker .....	3
<i>Figure 2</i> : Aspect morphologique de la plante <i>Nigella sativa L</i> .....	4
<i>Figure 3</i> : Structure chimique des trois flavonoïdes isolés de <i>Nigella sativa L</i> . d'après .....	7
<i>Figure 4</i> : Structure de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles.....	9
<i>Figure 5</i> :Voies de cheminement d'un produit dans l'organisme .....	17
<i>Figure 6</i> : Model des animaux de l'expérience .....	21
<i>Figure 7</i> : Etapes de l'extraction de l'huile totale à partir des graines de <i>Nigella sativa L</i> ...	23
<i>Figure 8</i> : le gavage des rats .....	24
<i>Figure 9</i> : l'anesthésie des rats .....	25
<i>Figure 10</i> : Les étapes de la récupération du sérum.....	26
<i>Figure 11</i> : la dissection et la récupération des organes.....	27
<i>Figure 12</i> : le prélèvement des pièces.....	32
<i>Figure 13</i> : la fixation des pièces.....	33
<i>Figure 14</i> : matériels et technique utilisé dans les coupe histologique.....	36
<i>Figure15</i> : Effet du traitement sur le poids des rats .....	39
<i>Figure 16</i> : Effet du traitement sur le poids des organes .....	40
<i>Figure 17</i> : Effet du traitement sur le bilan hépatique.....	42
<i>Figure 18</i> : Effet du traitement sur le bilan rénal .....	42
<i>Figure 19</i> : Effet du traitement sur le bilan lipidique .....	44
<i>Figure 20</i> : Effet du traitement sur la glycémie .....	44
<i>Figure 21</i> : coupes histologiques des reins.....	45
<i>Figure 22</i> : coupes histologiques des reins .....	46

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Composition chimique des graines de <i>Nigella sativa L</i> .....	<b>5</b>
<b>Tableau 2</b> : Répartition en acides aminés des protéines de graines de <i>Nigella sativa L</i> .....	<b>6</b>
<b>Tableau 3</b> Les composés de monoterpènes d'huile essentielle de <i>Nigella sativa L</i> .....	<b>8</b>
<b>Tableau 4</b> :Compositions chimiques de l'huile fixe de <i>Nigella sativa L</i> (g/100 g d'AG total) .....	<b>10</b>
<b>Tableau 5</b> : le rendement de l'extraction de l'huile totale .....	<b>38</b>
<b>Tableau 6</b> : Représente les résultats de dosage biochimique .....	<b>41</b>

## ***Introduction***

Depuis l'antiquité l'homme a utilisé les plantes pour subvenir à ses besoins tels que la nourriture, et la thérapie. Le développement de la science avec le temps a montré que ces plantes possèdent des vertus thérapeutiques scientifiquement prouvées. Les chercheurs ont pu tirer cette conclusion après avoir fait plusieurs expériences aux laboratoires. Ces plantes possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques telles que le pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire, antibactérien, les maladies neurodégénératives, les maladies gastro intestinales le diabète..... Neanmoins elles peuvent avoir aussi des effets secondaires lorsqu'elles sont consommées à forte concentration ce qui va induire une toxicité dans différents organes [1]. Les plantes sont capables de fournir une grande diversité de produits ne participant pas à leur métabolisme de base, mais représentant des produits du métabolisme secondaire ; les alcaloïdes, les polyphénols les flavonoïdes et les terpènes. [2].

C'est dans ce cadre que nous essayons de vérifier la toxicité d'une plante très utilisée en Algérie : *Nigella sativa L.*

En effet *Nigella sativa L* a une grande valeur dans l'application médicinale dans le monde islamique car elle est marquée dans la liste des médicaments contre diverses pathologies et avec des effets secondaires minimes par rapport aux médicaments à base chimique. Face à l'échec du traitement chimique à éviter les effets secondaires sur la santé, le recours à l'utilisation des plantes médicinales devient de plus en plus une pratique courante dans le traitement des maladies. D'ailleurs, cette démarche a été recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé(OMS) depuis 1970.

Ce travail vise à étudier la toxicité de l'huile totale et la fraction neutre des graines de *Nigella sativa* sur un modèle animale (des rats) par voie orale et pendant un mois puis on va faire un prélèvement de sang afin d'estimer les paramètres biochimiques sur le plasma (bilan hépatique, rénale et lipidique), ensuite on procède à une dissection pour récupérer le foie et les reins pour faire des études histologiques.

Notre travail présentera deux grandes parties :

1. La première partie théorique rendra compte sur notre matériel végétal *Nigella Sativa l*, puis un chapitre sera consacré à l'étude de la toxicité.
2. La seconde partie portera sur la partie pratique ou nous présenterons les techniques utilisées ensuite les résultats et la discussion.

Le premier chapitre sera consacré au matériel végétal, en insistant sur son intérêt en médecine populaire, sa place dans la systématique, les différents travaux réalisés sur ce genre et l'état actuel des connaissances.

Nous entreprendrons, dans le chapitre II l'étude des flavonoïdes avec notamment leur biosynthèse et leur classification.

La méthodologie phytochimique fera l'objet du chapitre III ,avec la description des techniques d'analyses mises en œuvre.

Nous présenterons au chapitre IV les résultats obtenus ainsi que les interprétations aussi bien pour la partie structure que pour la partie biologie des populati

## I. Généralités

Au cours des dernières années, les plantes médicinales ont acquis une attention particulière dans le traitement des maladies humaines en raison de leur faible prix, leur disponibilité et une meilleure acceptation par les patients.

*Nigella sativa L* est connu sous différents noms; en arabe il est nommé comme " Habbah Sawda " ou "Habbat el Baraka ", en Inde, il est appelé " Kalonji, " tandis qu'en Chine il est connu comme " Hak Jung Chou "[3].

C'est une plante herbacée originaire du moyen orient, de l'Europe centrale et de l'ouest de l'Asie et maintenant elle est cultivée dans plusieurs régions dans le monde surtout dans le bassin méditerranéen et en Inde [4]. Elle croit sur les terres semi arides au sein de communautés naturelles où prédominent les thérophytes [5,6]. Elle est très peu exigeante et pousse sur des terrains argileux ou sablonneux, dans des endroits chauds et peu humides [7].

Cette plante est utilisée traditionnellement depuis des millénaires à des fins culinaires et médicinales .elle est considérée comme remède dans le traitement de nombreuses pathologies (l'inflammation, l'allergie, l'eczéma, la bronchite, l'hypertension, le diabète et les états grippaux) [8].

En effet, *Nigella sativa L* a une grande valeur dans l'application médicale dans le monde car elle est même marquée dans la liste des médicaments de Al-tibb anabawi du au proverbe du prophète Mohamed (SAW) qui dit : (tenez-vous à l'utilisation de habbat el sawda ) c'est un remède contre n'importe quelle maladie excepté la mort.

Souvent elle est appliquée en cuisine comme épice dans les plats raffinés en pays arabes ,en inde et en Europe et un additifs dans plusieurs plats[9,10] .

## II. La classification ou systématique et la description botanique

### II.1. Classification

La classification botanique des Angiospermes de Cronquist (1988) est basée sur les critères morphologiques, anatomiques et chimiques des plantes. *Nigella sativa L* est une plante à graines donc elle fait partie de l’embranchement des Spermaphytes.

La famille des Renonculacées comprend une trentaine de genre et environ 1200 espèces

Le genre *Nigella Sativa L* inclut environ 20.espèces diffusés dans les régions méditerranéennes et en Asie occidentale [11 ,12] .

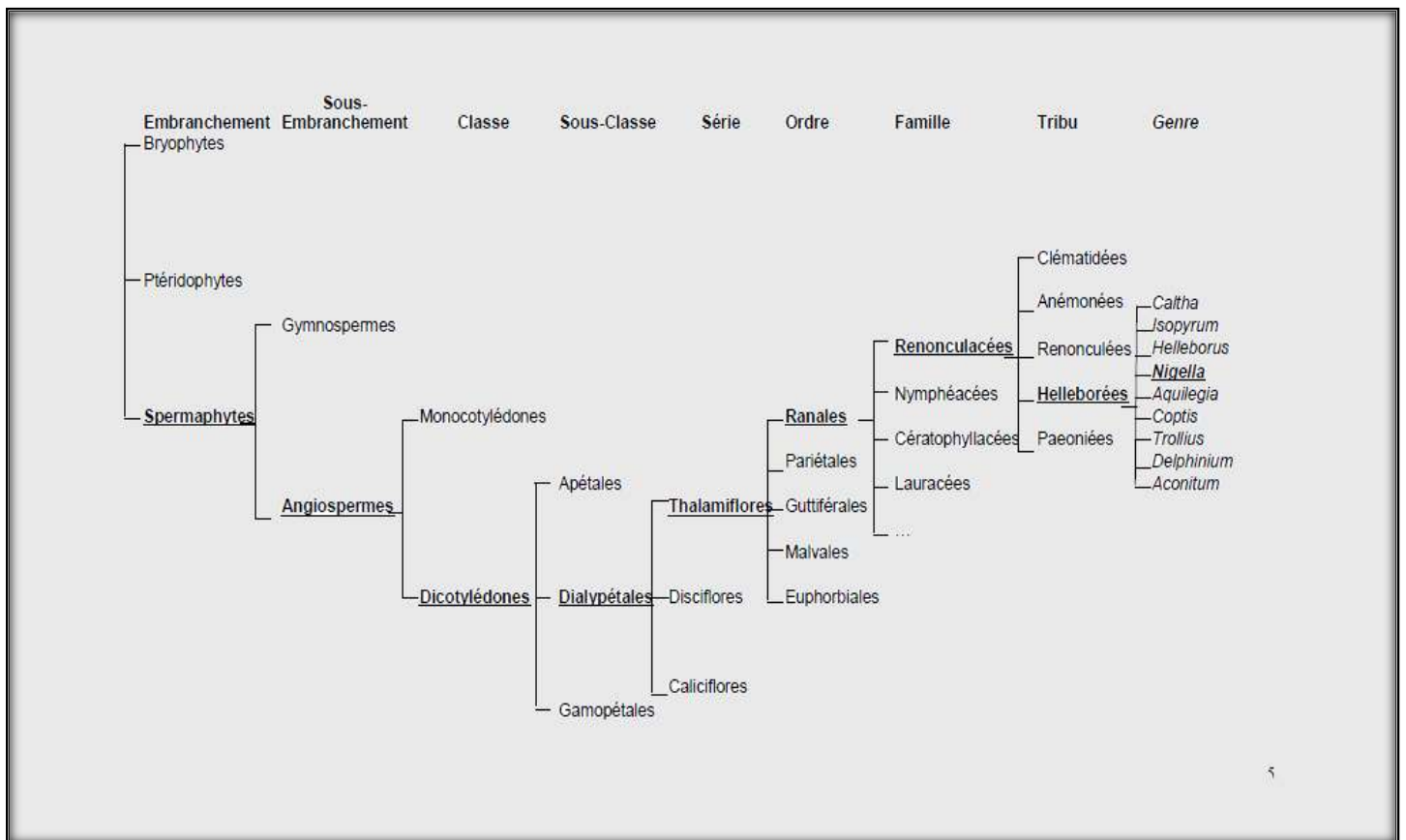


Figure 1 : classification botanique selon Bentham et Hooker [13,14] .

## II.2. Description botanique

*Nigella sativa L* est une plante herbacée annuelle de la famille des Renonculacées. Atteignant 30 à 60 cm de haut avec des feuilles linéaires finement divisées [15]. Les fleurs sont délicates et généralement de couleur blanche, jaune, rose, bleu pâle ou pourpre pâle, avec 5 à 10 pétales. Les fruits mûrs constitués de follicules soudés s'ouvrant par une fente interne renferment de nombreuses graines de couleurs noir mat, ovoïdes, mesurant de 2 à 3 mm de long et présentant trois ou quatre angles. Il est généralement cultivé sur un sol sec entre Novembre à Avril et les graines prennent environ 10-15 jours pour germer [10,16].

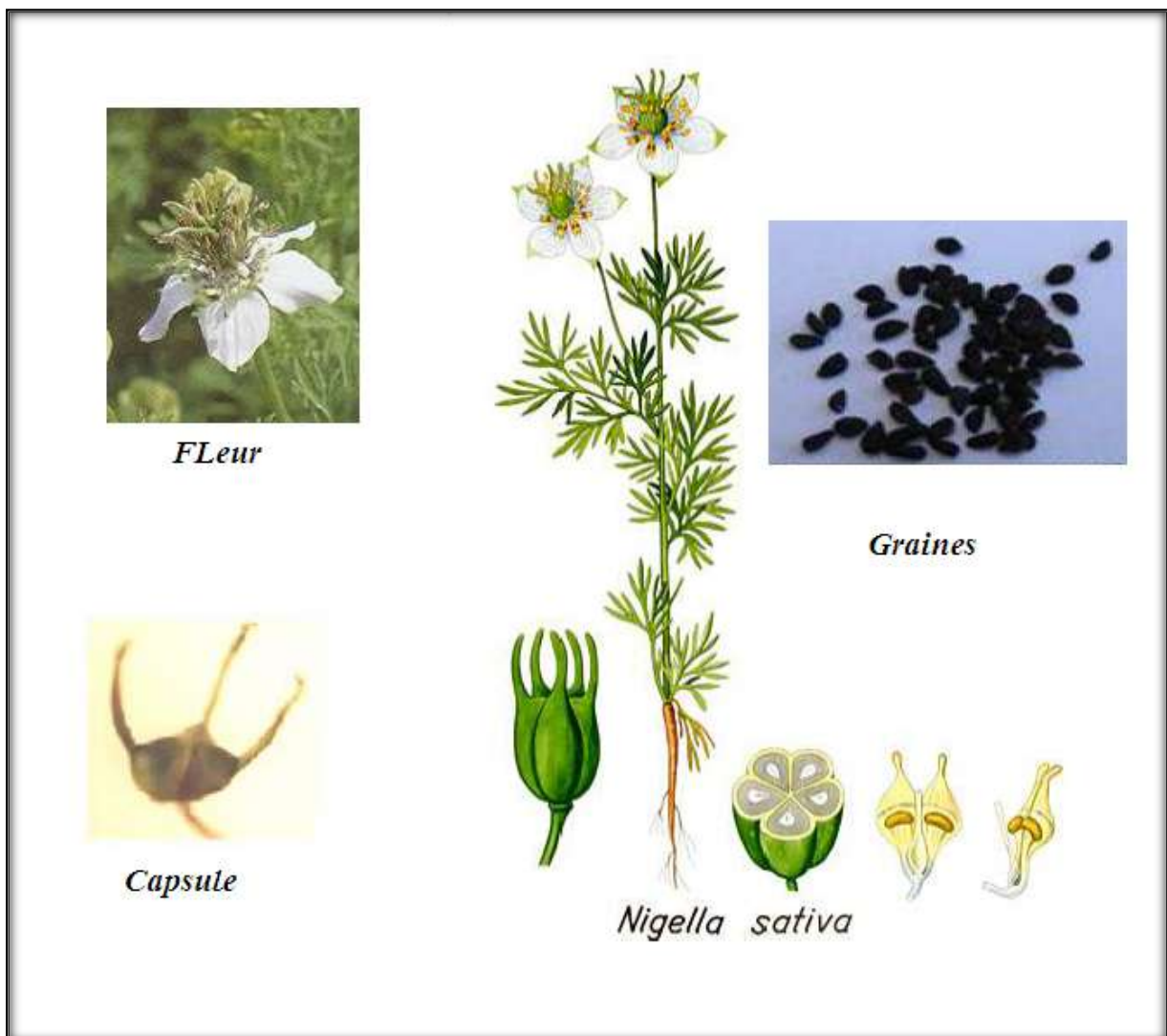


Figure 2 : Aspect morphologique de la plante *Nigella sativa L* [4].

### III. Composition chimique des graines de la plante

#### III.1. compositions générale

La première publication sur les recherches de la composition des graines de *Nigella Sativa L* ont débutés en 1880 par Greenish, qui mentionne la présence de 37% d'huiles et 4,1% d'éléments minéraux [17]. Des nouvelles études ont prouvé que les graines sont très riches en plusieurs constituants tant en métabolites secondaires (terpéniques, flavoniques) que primaires (lipides, protéines et glucides) et de sels minéraux (phosphore, calcium, potassium, magnésium et sodium) [18].

**Tableau 1 :** Composition chimique des graines de *Nigella sativa L* d'après [19].

Constituant	Quantité (%)
Eau	6.4
Lipides	31.4
Protéines	20,2
Fibres	6.6
Glucides	35.4

##### III.1.1. Lipides et stérols

Les graines constituent environ 0,4-2,5% d'huile essentielle, plus de 30% d'huiles fixes et [20,21] 38% de lipides totaux dont les phospholipides [22]. Les deux acides gras principaux de l'huile de *Nigella sativa L* sont les acides oléique et linoléique et ils constituent 75% des acides gras totaux [23]. Les stérols représentent environ 2% de l'huile fixe [24].



### III.1.2. Les protéines

Les graines de *Nigella Sativa L* sont très riches en protéines, elles représentent environ de 20%, en 1992 Saleh Al-Jassir fait l'analyse de la composition en acides aminés (AA) sur les graines de Nigelle d'Arabie [25]. Les protéines de la graine de Nigelle sont composées de 17 acides aminés dont 8 sont des acides aminés essentiels.

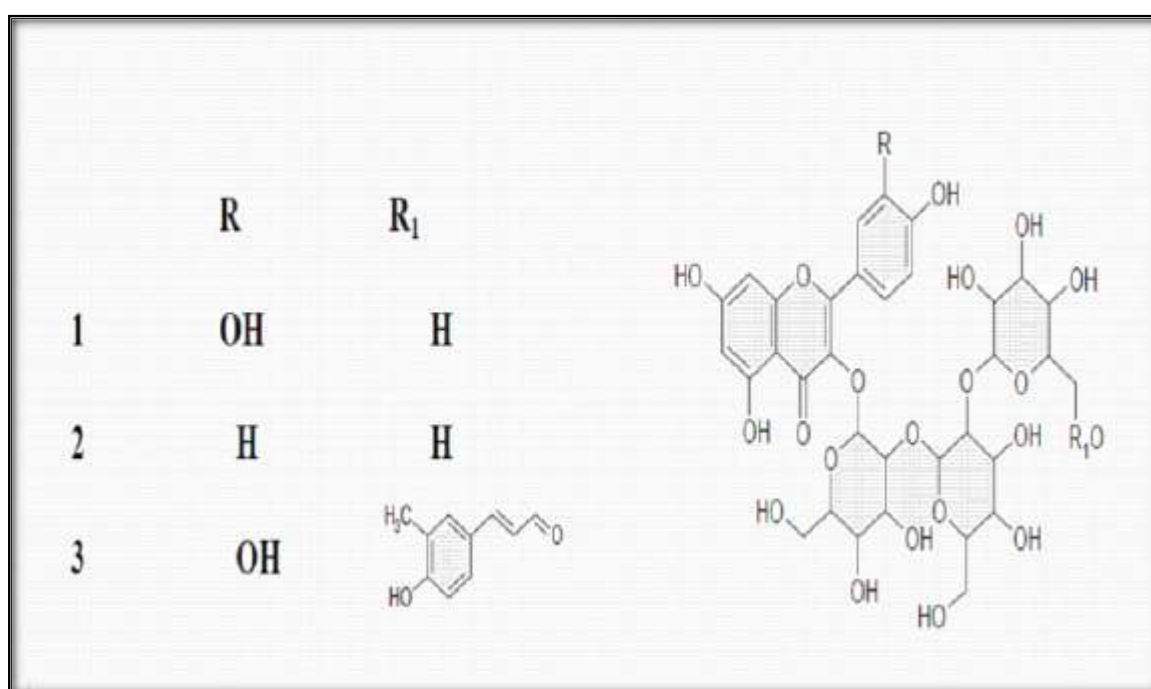
**Tableau 2 :** Répartition en acides aminés des protéines de graines de *Nigella sativa L* [25].

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

### III.1.3. Polyphénols et flavonoïdes

Les Renonculacées sont riches en flavonols et en flavones. En 1997, à partir des graines de *Nigella sativa L* ont été isolés trois nouveaux flavonoïdes triglycosylés [26].

1. quercétine 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside
2. kœmpférol 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside
3. quercétine 3-(6-feruloglucosyl) (1→2) galactosyl (1→2) glucoside



**Figure 3** : Structure chimique des trois flavonoïdes isolés de *Nigella sativa L*. d'après [27].

## III.2. L'huile

### III.2.1. L'huile essentielle

Les huiles essentielles ou les huiles volatiles sont des substances naturelles volatiles. Elles représentent une petite fraction dans la composition chimique de la plante et sont responsables de l'odeur distinctive de la plante. C'est pour cette raison que les plantes qui synthétisent les huiles essentielles sont connues sous le nom de « plantes aromatiques » [28 ,29]

Les terpènes sont les composants les plus abondants dans les huiles essentielles, Les composés aromatiques sont des dérivés de phenylpropane (C6- C3), et sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Les huiles essentielles peuvent être également renfermées d'autres constituants qui ne sont pas des terpènes ou des dérivés de phénylpropane, comme les composés issus de la dégradation d'acides gras et les composés azotés et soufrés qui résultent du clivage d'acides aminés ou de ces précurseurs [30 ,31,32].

**Tableau 3 : Les composés des monoterpènes d'huile essentielle de *Nigella sativa L* [33]**

Composition	Teneur (%)
thymoquinone	23.25 ± 1.03
dihydro Thymoquinone	3.84 ± 0.12
p-Cymene	32.02 ± 1.01
carvacrol	10.38 ± 0.30
α-thujene	2.40 ± 0.06
thymol	2.32 ± 0.26
α-Pinene	1.48 ± 0.02
β-pinene	1.72 ± 0.05
t-Anethole	2.10 ± 0.42
Composants mineurs	23.81 ± 0.92

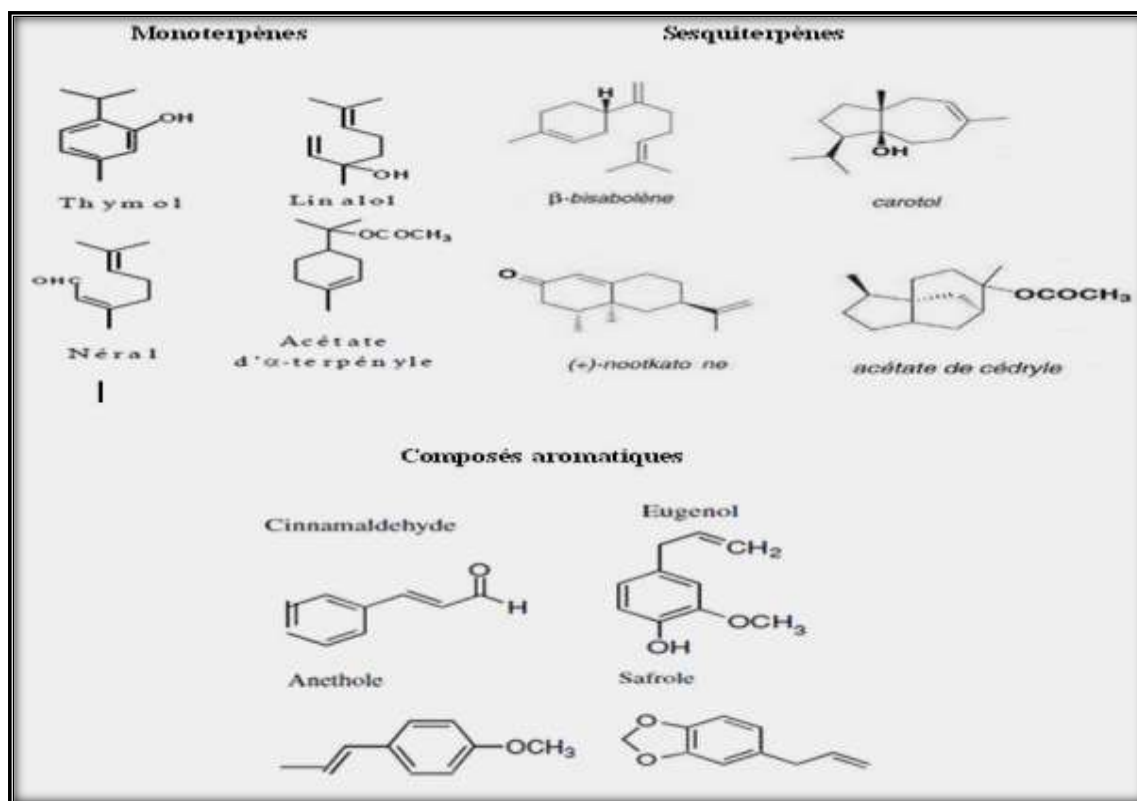


Figure 4 : Structure de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles [34].

### III.2.2.L'huile fixe

L'huile fixe représente 37,9-39,2% du poids de la graine. Elle est constituée principalement de lipides neutres 96,1% - 97,2%, de lipides polaires 3%, et de phospholipides 0,32 - 1,05% [34].

#### III.2.2.1. Les Compositions chimiques de l'huile fixe

La séparation des composés chimiques de l'huile fixe de la plante est obtenue par une méthode chimique basée sur la pression à froid des graines. Les principaux composants sont principalement des esters du glycérol et d'acides gras tels que l'acide linoléique, l'acide oléique et l'acide palmitique [35, 36, 37].

Des études sur les glycolipides de *Nigella sativa L* ont permis de séparer et d'identifier six composés dont le plus abondant est le digalactosyl diacylglycerol qui forme 55,6 % des

glycolipides totaux [38]. L'analyse phytochimique de deux variétés de graines de *Nigella sativa L* (provenant d'Iran et de Tunisie) montre que le principal acide gras insaturé est l'acide linoléique suivi par l'acide oléique, alors que l'acide gras saturé majoritaire est l'acide palmitique. La présence d'autres acides gras (myristoleique, palmitoleique, margarique, arachidique, eicosanoïque, behénique, lignocérique) a été également détectée [35] (Tableau 4). Ces résultats correspondent bien avec ceux trouvés par Nickavar et al. [37].

**Tableau 4:** Compositions chimiques de l'huile fixe de *Nigella sativa L* (g/100 g d'AG total) [33].

Composition	Teneur (%)
Myristique	0,35–0,41
Myristoleique	Traces
Palmitique	17,2–18,4
Palmitoleique	0,78–1,15
Margarique	Traces
Margaroléique	Traces
Stéarique	2,84–3,69
Oléique 2	3,7–25
Linoléique	49–50,31
Linoléinique	0,32–0,34
Arachidique	0,14–0,22
Eicosanoïque	0,32–0,34
Lignocérique	Traces
AG saturés	22,7–25,5
AG mono-insaturés	25,0–26,5
AG polyinsaturés	49,8–50,7

## IV. Propriétés pharmacologiques de Nigella Sativa L

Durant les 20 dernières années, de plusieurs recherches ont été menées sur les effets de *Nigella sativa L* notamment les effets dus aux huiles et leurs composants majeurs principalement la thymoquinone .

### IV.1.L'Activité antioxydant

#### \* *Étude in vitro*

De nombreuses recherches se sont intéressées à l'activité antioxydante de l'huile volatile des graines de *Nigella sativa L* et de ses composants principaux le thymoquinone, le carvacrol, le *t*-anéthol et le 4-terpinéol qui ont le pouvoir de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les radicaux hydroxyles pendant la peroxydation lipidique non enzymatique [33 ,39].

L'activité hepatoprotectrice de la thymoquinone est caractérisée par une diminution des taux d'alanine amino-transférase (ALAT) et de phosphatase alcaline (PAL) sur des hépatocytes isolés oxydés par de l'hydroperoxyde de tert-butyle [40]. Ainsi que l'huile fixe et ses fractions (lipides neutres, glycolipides et phospholipides) ont indiqué une activité antioxydante vis-à-vis des deux radicaux libres stables : le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) et le glavinoxyl. Cette activité antioxydante est corrélée à la teneur en acides gras polyinsaturés, en composés insaponifiables et en phospholipides.

Aussi les extraits éthanolique et aqueux des graines de *Nigella sativa* délipidées présente une activité anti-oxydante importante. [41].

#### \* *Étude in vivo*

Des études ont montré que l'administration de l'huile de *Nigella sativa* et de la thymoquinone présente une activité protectrice vis-à-vis l'hyperhomocystéinémie induite par la méthionine, par l'empêchement de l'accumulation de l'homocystéine qui est l'une des causes de stress oxydatif, en plus elle joue un rôle protecteur contre la peroxydation lipidique et les changements du statut oxydatif [42].

D'autres recherches ont établi que le prétraitement des rats exposés à des radiations ionisantes par l'huile essentielle de *Nigella sativa L* provoquent une réduction significative des marqueurs du stress oxydant (MDA, nitrate et nitrite) avec une augmentation considérable du taux des antioxydants non enzymatiques (acide ascorbique, rétinol, GSH) [43].

En effet, le traitement avec l'huile de *Nigella sativa L* des rats soumis à un régime alimentaire infecté par l'aflatoxine présente une protection importante contre l'hépatonephrotoxicité et les endommagements oxydatifs (réduction des taux de la GPx, la SOD, augmentation de la peroxydation lipidique et des altérations de l'ADN) induits durant l'aflatoxicose. Cet effet protecteur de l'huile de *Nigella sativa* est probablement attribué à leur activité anti-radicalaire [9].

#### IV.2. Activité antibactériennes

L'huile de *Nigella sativa L* possède une activité antibactérienne importante, il inhibe la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif. En effet, il a été rapporté que l'huile fixe possède un grand pouvoir inhibiteur supérieur à celui de gentamicine sur vingtaine de souches de *Listeria monocytogene* [44,45].

L'huile fixe présente une activité antifongique, notamment sur *Aspergillus niger* [46]. D'autres études ont montré que l'extrait étherique et la thymoquinone exerce une activité inhibitrice sur huit espèces de dermatophytes [47].

En plus des activités antibactériennes et antifongiques, l'huile de *Nigella sativa L* possède un effet antiviral *vis-à-vis* de virus de l'herpès : cytomégalo virus murin (MCMV) [48].

#### IV.3. Activité anti-inflammatoire et analgésique

Des recherches ont étudié l'activité anti-inflammatoire et analgésique des extraits ou des composés de *Nigella sativa*, les résultats ont montré que l'huile fixe possède une action importante «action antinociceptive», cette activité est due à la présence d'un principe opioïde. Cette action est antagonisée par la naloxone [8,49]. Cette huile présente un effet dépressur significatif sur le SNC par l'activation indirecte des récepteurs superspinaux  $\alpha 1$  et kappa. En effet, la thymoquinone s'est avérée être un puissant inhibiteur du thromboxane B2 et des leucotrienes B4 par l'inhibition respectivement des cyclo-oxygénase et lipo-oxygénase [50,51].

La thymoquinone et l'huile fixe ont empêché la cyclo-oxygénase (COX) et la 5-lipo-oxygénase (5-LO), l'inhibition de la production d'eicosanoïde, et la peroxydation lipidique est plus importante avec l'huile fixe qu'avec la thymoquinone[52].

#### IV.4. Activité antidiabétique

Plusieurs recherches ont étudié les effets de *Nigella sativa L* sur quelques complications du diabète expérimental induit chez les animaux [53]. L'huile essentielle administrée par voie intra péritonéale a diminué la glycémie à jeun chez les animaux normo et hyper glycémiques. En parallèle, l'insulinémie n'ayant pas été affectée par les traitements. L'effet hypoglycémiant observé se manifeste selon un mécanisme non encore identifié et n'impliquant pas l'insuline [54].

Le traitement des rats avec l'extrait de *Nigella sativa L* seul ou associé avec les hormones thyroïdiennes humaines a indiqué une augmentation de la production d'insuline par les cellules  $\beta$  du pancréas. D'autres études ont montré que le traitement des rats diabétiques avec l'extrait brut et l'huile commerciale provoque une réduction importante de la glycémie. Le mécanisme d'action impliqué n'est pas relié à l'inhibition de l'absorption intestinale du glucose ni à la stimulation de l'insulinosecrétion, mais il est probablement dû à l'inhibition des enzymes de la néoglucogénèse hépatique [55,56].

#### IV. 5.Activité antitumorale

L'extrait de *Nigella sativa L* diminue le diamètre des tumeurs induites par des substances chimiques carcinogènes. Des chercheurs ont déterminé que *Nigella sativa L* possède un effet antitumoral envers plusieurs types de cellules malignes. Cette action est due à une inhibition de l'incorporation de thymidine au niveau de l'ADN[57]. Aussi L'extrait d'acétate d'éthyle de *Nigella sativa L* agit contre la prolifération chez différentes lignées cellulaires cancéreuses[58].



#### IV.6. Activité hépato-protecteur

L'activité hépato-protecteur de l'huile de *Nigella sativa L* et celui de la thymoquinone plusieurs études ont indiqué que *Nigella sativa L* diminuait la peroxydation lipidique induite et augmentait la capacité anti-oxydante du foie chez les Lapins.

La thymoquinone (1mM) testée sur des hépatocytes isolés réduit le largage des enzymes cytosoliques des hépatocytes : l'alanine transaminase (ALT) et l'aspartate transaminase (AST), après l'exposition des hépatocytes au tertbutyl hydroperoxyde (TBHP) [59].

#### IV.6. Activité sur les reins

La *Nigella Sativa L* avec ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires lutte efficacement contre les lésions rénales. La thymoquinone a eu les meilleurs résultats, ce sont ses propriétés inhibitrices de la peroxydation lipidique microsomale et stimulante des polynucléaires qui protègent contre les actions des radicaux libres. Son effet Anti-inflammatoire qui se manifeste par l'inhibition des COX et de la LOX, lutte également contre l'état inflammatoire induit au niveau du rein. [60].

## **I. Introduction**

La toxicologie est reconnue comme étant la science des poisons. Elle étudie les propriétés des substances chimiques, leur effet nocif sur les organismes vivants et leur mode d'action. Un poison, ou toxique, est une substance capable de modifier le fonctionnement normal d'un organisme vivant. Pouvant aller jusqu'à la mort Il peut être d'une source naturelle, artificielle, de nature chimique ou biologique.

Dans le cas d'une exposition de l'organisme à un produit toxique ; le produit peut agir au point de contact (effet local) ou pénétrer dans l'organisme (effet systémique). Plusieurs des xénobiotiques exercent leurs toxicités après pénétration dans l'organisme qui se fait par l'absorption pour atteindre la circulation sanguine après avoir traversé les membranes. Les principales voies de pénétration ; la voie respiratoire, la voie cutanée et la voie orale. [61,62].

## **II. L'effet toxique**

Cet effet est le résultat d'un processus souvent complexe suite à une interaction entre le toxique et l'organisme. Il est lié à la voie d'absorption, à la gravité au temps d'apparition, et au type des lésions, il entraîne une série des réactions physiologiques et métaboliques.

Les effets des xénobiotiques sur la santé peuvent être réversibles ou temporaires lorsqu'ils disparaissent après cessation de l'exposition à la substance ou irréversibles (Permanents) lorsqu'ils persistent ou s'intensifient après arrêt de l'exposition.

Un effet aigu se fait sentir dans un temps relativement court (minutes, heures, jours)

Un effet chronique ne se manifeste qu'après un temps d'exposition relativement long et de façon permanente (semaines, mois, années).

Un effet morphologique aboutit à un changement de la morphologie d'un tissu visible en microscopie optique ou électronique

Un effet fonctionnel détermine un changement dans les fonctions d'un organe (foie, rein).

[62].

### III. Les types de la toxicité

On distingue classiquement 3 formes de toxicité : la toxicité aiguë, la toxicité à court terme (subaiguë et subchronique) et la toxicité à long terme (chronique).

**La toxicité aiguë** : est une toxicité résultant de l'administration unique d'un xénobiotique correspond habituellement à ce qu'on appelle la dose létale 50 (DL 50 dose létale, ou dose provoquant la mort de 50% des animaux exposés).

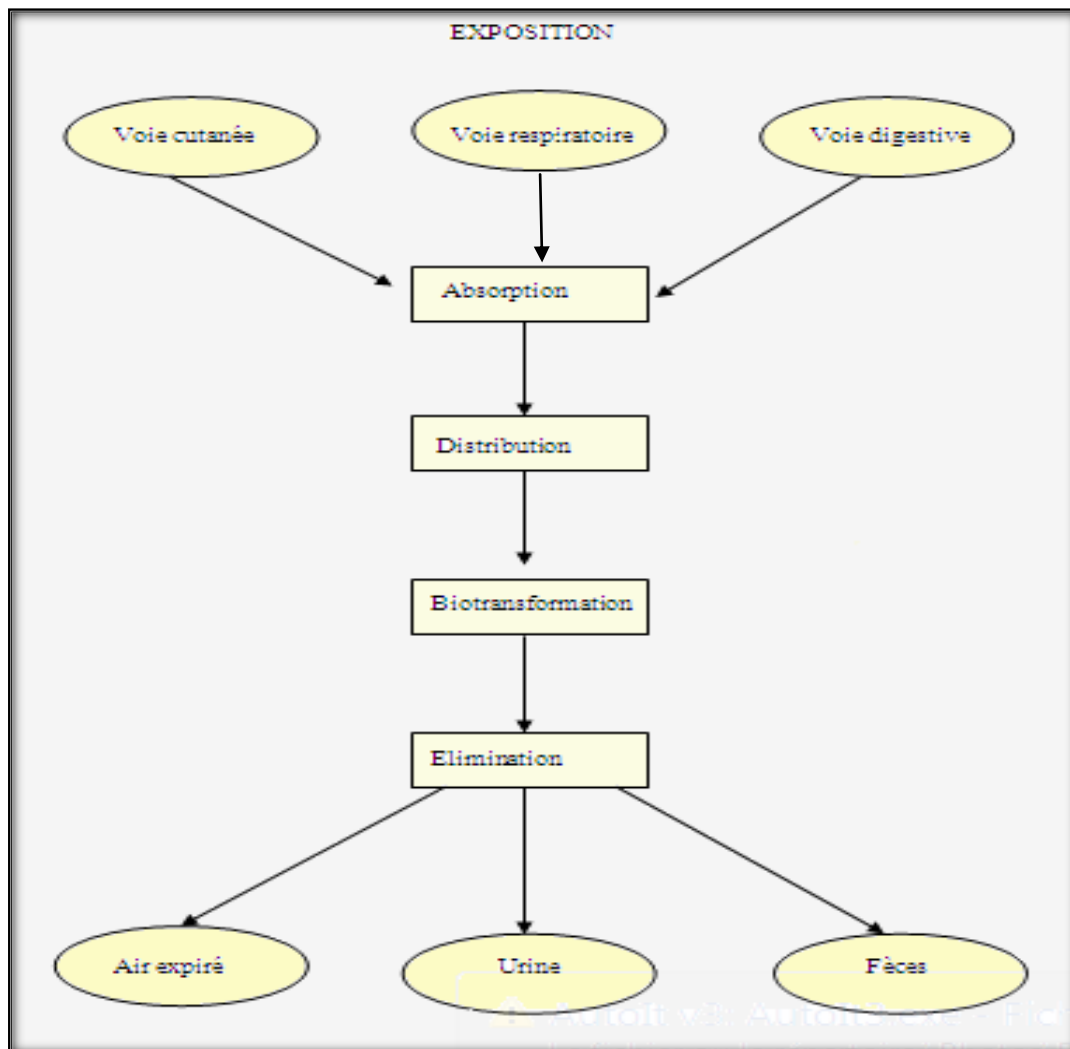
**La toxicité chronique** : l'administration d'une faible dose répétée (prolongée) d'un xénobiotique dont les effets néfastes ne se feront sentir que quelques mois à quelques années voir dizaines d'années plus tard.

**La toxicité subaiguë** : A la différence de la toxicité aiguë elle permet d'identifier et donc de prévoir les organes cibles sur lesquels un xénobiotique exercera également une action en cas d'intoxication chronique. [61 ,62].

### IV. La toxicocinétique

Le parcours d'un xénobiotique dans l'organisme se schématise par quatre étapes majeures :

La première est l'**absorption**, c'est-à-dire le passage du milieu extérieur vers le milieu intérieur. Le second est la distribution du composé dans les différents compartiments de l'organisme, les compartiments se traduisant par un ou plusieurs sites de stockage, des organes ou des tissus cibles, et la troisième étape concernant les sites de **biotransformation** de la substance absorbée finalement, l'étape d'**élimination** consiste à rejeter dans le milieu extérieur [63].



**Figure 5 :** Voies de cheminement d'un produit dans l'organisme

#### IV.1.L'absorption

On appelle absorption le processus de pénétration d'un produit dans l'organisme. Plusieurs facteurs influencent le processus d'absorption: sa nature, sa solubilité, la perméabilité des tissus biologiques au point de contact, la durée et la fréquence de l'exposition.

### **IV.2.La distribution**

C'est le processus dans lequel une substance absorbée se répartit dans les différents organes et tissus. Certaines barrières membranaires sont moins perméables que d'autres, les mécanismes de diffusion dépendent des caractéristiques physico-chimiques du xénobiotique.

### **IV.3.La biotransformation**

Pendant ou après son transport dans le sang, le toxique peut entrer en contact avec différentes cellules de l'organisme qui ont la capacité de le transformer. Les réactions de la transformation métabolique sont appelées biotransformation, les produits de la biotransformation sont appelés métabolites en résultant un produit moins toxique (détoxification) ou plus toxique (activation).

La biotransformation des toxiques est surtout effectuée par le foie qui contient une multitude d'enzymes. Il enrichit le sang d'éléments nutritifs et le purifie en concentrant et en éliminant beaucoup de substances. D'autres organes tels que les poumons et les reins peuvent aussi transformer des toxiques.

### **IV.4.L'excrétion**

Ce processus permet de rejeter le produit inchangé ou ses métabolites à l'extérieur de l'organisme. L'**excrétion** peut se faire par voie rénale (l'urine), gastro-intestinale (les selles), pulmonaire (l'air expiré), cutanée (la sueur) ou lactée (le lait).

## **V. Les organes cibles**

Les toxiques ne produisent pas des effets de même intensité sur tous les organes ou les tissus. Ils s'attaquent à des organes en particulier, les organes cibles, pour des raisons qui ne sont pas toujours comprises. Il peut y avoir plusieurs raisons, dont une sensibilité plus grande de ces organes, une concentration plus élevée du toxique et/ou de ses métabolites. Par exemple, le foie est un organe cible pour le chlorure de vinyle [64].

## V.1. Description des manifestations par le système biologique et les organes cibles

### V.1.1.L'hépatotoxicité :

C'est l'atteinte du **foie**. Le foie est un organe principal, tout comme le cœur et les poumons. Il remplit de multiples fonctions. Il a un rôle très important dans le maintien de l'équilibre général. Il participe à la digestion, à l'emmagasinage des aliments ainsi qu'à la détoxification, en aidant l'organisme à se dégager de ses poisons. Il a un rôle important dans la transformation des substances circulant dans le sang, dont les substances toxiques qui y sont transportées et qui dans plusieurs cas peuvent y être neutralisées. C'est une cible pour de nombreux toxiques à cause de son important débit sanguin et de sa situation par rapport à la circulation sanguine (ex. : le tétrachlorure de carbone, le diméthylformamide, l'ingestion chronique abusive d'alcool éthylique) [65].

### V.1.2.La néphrotoxicité

C'est un effet toxique sur le **rein**. Le rein est l'organe d'élimination responsable de la sécrétion de l'urine. Il joue un rôle dans la régulation de l'équilibre des liquides du corps et contribue à débarrasser le sang de ses impuretés, et notamment de certains toxiques (ex. : le cadmium, le chloroforme) [65].

## VI. Détermination des paramètres biochimiques

L'identification du toxique par l'analyse biochimique est certes une composante fondamentale du raisonnement toxicologique, les examens nécessaires sont ; l'examen clinique complet, l'électrocardiogramme et examens biologiques de routine constitue la clé de voûte du raisonnement. La démarche pragmatique doit conduire à limiter les examens toxicologiques à un minimum orienté, pertinent et rentable qui incluent les paramètres biochimiques de base ; le bilan hépatique (ASAT, ALAT et PAL), le bilan rénale (Urée et Créatinine) et le bilan lipidique (Triglycéride et Cholestérol) [64].

## Matériels et méthodes

### Matériels

#### I.1. Matériels biologiques

##### I.1.1. Les rats

Notre expérience a été réalisé sur 18 rats males *wister albinos* à l'Age de 6 semaines, de poids environ de 100 -180g Produit par élevage au niveau de l'animalerie de la faculté des sciences de la Nature et de la Vie de l'université des Frères Mentouri Constantine (**Figure 6**).

Le choix de ce modèle animal a été fait pour les raisons suivantes :

- Les rats sont des animaux dociles et facile à manipuler.
- Ils sont peu agressifs.
- Ils sont les modèles d'animaux le mieux adaptés et le plus utilisés dans des études similaires citées par la littérature.

- Ces animaux ont été repartis selon l'homogénéité de leurs poids, leurs âges en 3 lots expérimentaux de 6 rats dans chacun.

- ils sont mis dans des cages propres et stériles en polypropylène équipées d'un couvercle, un mangeoire où nous posons la bouteille d'eau et l'alimentation. Elles sont munies d'un porte étiquette pour mentionné le nom du lot, le traitement et les dates d'expérimentation.

Ces cages sont placés dans des chambres spéciales qui respecte les conditions expérimentale de température (environ 20 à 23°C) et de lumière car les rats sont sensibles aux variations thermiques et à la lumière trop vive pour les variétés albinos.

- les rats de tous les lots de l'expérience ont été marqués par des marqueurs colorés chaque jour pour leurs identifications.

- ils subissent une période d'adaptation de 15 jours avant l'administration du traitement qui varie d'un lot à l'autre (4 à 6 semaines). Ils ont un accès libre à l'eau et à l'aliment standard fourni par l'Office National des Aliments du Bétail (ONAB) de Bejaia.
- Les cages sont nettoyées quotidiennement pour assurer la propreté des rats qui est nécessaire à leur survie.



*Figure 6* : Model des animaux de l'expérience .

### **I.1 .1.1. L'alimentation standard et la composition**

L'alimentation standard de la composition est 15% de protéine 25% de matière grasse, cellulose, magnésium, calcium phosphore, vitamines A, D3, E, oligo-éléments (fer, cuivre, sélénium, zinc, cobalt, iode, et manganèse).

### **I.2. Le matériel végétal**

#### **I.2.1. Les graines de *Nigella Sativa L***

Les graines de *Nigella sativa L* sont locales, cultivées et récoltées dans la Wilaya de Bechar au cours de l'année de 2013. Les graines sont nettoyées des débris végétaux et stockées à l'obscurité et à 4°C jusqu'à leur utilisation.



### I.3. Les produits chimiques

Nous avons utilisé dans notre expérience : l'éthanol, méthanol, chloroforme, formol, hexane, le diméthyle-sulfodrique , hexane ,l'acétone .

## II .1. Extraction et caractérisation de l'huile de *Nigella sativa* L

L'extraction et le fractionnement de l'huile totale ont été réalisés selon le protocole de Ramadan et Mörsel [34] avec des modifications.

### II .1. 1. Obtention de l'extrait méthanolique par soxhlet

Les graines de *Nigella sativa* préalablement nettoyées puis broyées. La poudre obtenue, est soumise à une extraction par *soxhlet* (extraction à chaud), en utilisant le méthanol comme solvant, pendant 2 heures. Le méthanol est éliminé par évaporation sous pression réduite à 40°C en utilisant un rota vapeur (BÜCHI). Cette opération a permis ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur verte foncée, qui est considéré comme étant l'extrait méthanolique.

### II .1. 2. Extraction de l'huile totale à froid

L'extrait méthanolique a été mélangé dans une ampoule à décanter avec l'hexane (200ml). Après agitation, deux phases ont été obtenues, une phase methanolique plus dense qui apparaît au-dessous, et une phase hexanique, contenant les lipides. Cette phase a été récupérée et l'hexane a été par la suite évaporé à 40°C. L'extrait résultant est considéré comme étant l'huile totale des graines de *Nigella sativa* caractérisée par une couleur verdâtre (Figure 7).

### II.1.3. Fractionnement de l'huile de *Nigella sativa* L

Le fractionnement de l'huile totale des graines de *Nigella sativa* a été réalisé par chromatographie sur colonne (CC). La colonne utilisée est de 30 cm de hauteur et de 20 mm de diamètre. La phase stationnaire est constituée de gel de silice 60G (70-230 Mesh ; 0,063-0,2 mm). L'élution des différentes fractions a été réalisé selon un ordre croissant de polarité.

La phase mobile: 100% chloroforme suivie par 100 % Acétone et finalement 100% méthanol. Les solvants sont éliminés par évaporation sous pression réduite à 40°C en utilisant un rota vapeur (BÜCHI) pour récupérer les différentes fractions.

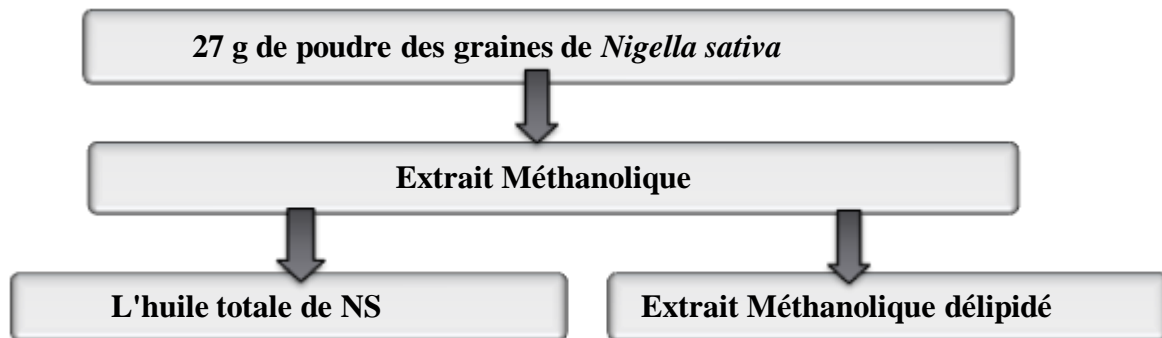


Figure 7 : Etapes de l'extraction de l'huile totale à partir des graines de *Nigella sativa* L.

## II .2. Le traitement des animaux

Après la période d'adaptation, les trois lots reçoivent un traitement précis d'huile totale (HT), et de la fraction neutre (FN). Ces traitements ont été administrés par la voie orale (*per os*) à l'aide d'une sonde spécifique fixée sur une seringue, le troisième lot reste comme un lot contrôle (témoin).

Les lots expérimentaux avec les traitements

- *LOT 01* : groupe de contrôl (Témoin), les rats ne reçoivent que l'eau potable et de la nourriture simple.
- *LOT 02* : les rats reçoivent une dose de 400 mg /kg d'huile totale (HT) avec une simple nourriture et de l'eau potable pendant 4 semaines.
- *LOT 03* : ce groupe des rats reçoit 300 mg /kg de la fraction neutre et une nourriture simple et de l'eau potable pendant 4 semaines

Tous les lots reçoivent quotidiennement la quantité de 150 g d'aliment et de 700 ml d'eau potable.

Les cages doivent être nettoyées et stérilisées chaque jour pendant l'expérience.

Les animaux ont été régulièrement pesés chaque jour, à la même heure et depuis le début des traitements jusqu'à la fin des expériences et leurs cages aussi doivent être nettoyées et stérilisées quotidiennement toute la période de l'expérience.

Egalement pour suivre l'évolution du poids en fonction de l'alimentation, la quantité de l'aliment consommé est enregistrée quotidiennement et la moyenne de l'aliment consommé est calculée chaque fin de semaine.



*Figure 8 : Le gavage des rats*

**II.3. La préparation de l'animal**

Le dernier jour du traitement, l'alimentation et l'eau sont enlevées et les rats doivent être à jeun le jour où ils sont sacrifiés.

Ils sont anesthésiés par le chloroforme par inhalation pendant 2 à 3 minutes sous une cloche expérimentale pour rongeur de laboratoire hermétiquement fermée (Figure 9).



*Figure 9: l'anesthésie des rats*

**II.4. Le prélèvement sanguin**

Nous avons choisi le prélèvement oculaire pour la récupération du sang des rats.

Ce type de prélèvement concerne essentiellement les prélèvements conjonctivaux préopératoire, il sera effectué au niveau de l'angle interne de l'œil de l'animal anesthésié à l'aide des petits tubes capillaires et stériles Figure (10a).

Les échantillons sanguins de chaque rat sont recueillis dans des tubes héparinés étiquetés, puis ils sont centrifugés à vitesse de 3000 tour/minute pendant 15 minutes (figure 10 b, c). Le sérum obtenu est séparé en plusieurs aliquotes, dans des tubes eppendorf marqués

Figure (D, E) avant leurs conservations a une température de - 20°C jusqu'à leurs utilisations pour le dosage des paramètres biochimiques (bilan rénal, bilan hépatique et bilan lipidique).



(B)



(D)

Figure 10 : Les étapes de la récupération du sérum

### II.5. La dissection des animaux

Le rat est posé sur sa face dorsale contre le liège, les membres sont étirés et fixés en extension par des épingles piquées dans les mains et les pieds. Avec les ciseaux on coupe de haut en bas, et au niveau des bras et des jambes latéralement et on soulève la peau avec les pinces. (Figure 10 a)

Sous la peau on rencontre une deuxième « enveloppe » constituée de muscles (figure 10 b), on coupe les muscles minces de la poitrine et du ventre, la coupure doit être latérale au centre et pas trop profonde pour conserver les organes (Figure 10c).

Après l'ouverture abdominale et longitudinale du rat, on prélève les organes nécessaires pour notre étude qui sont le foie et les reins (Figure 10d ;e)

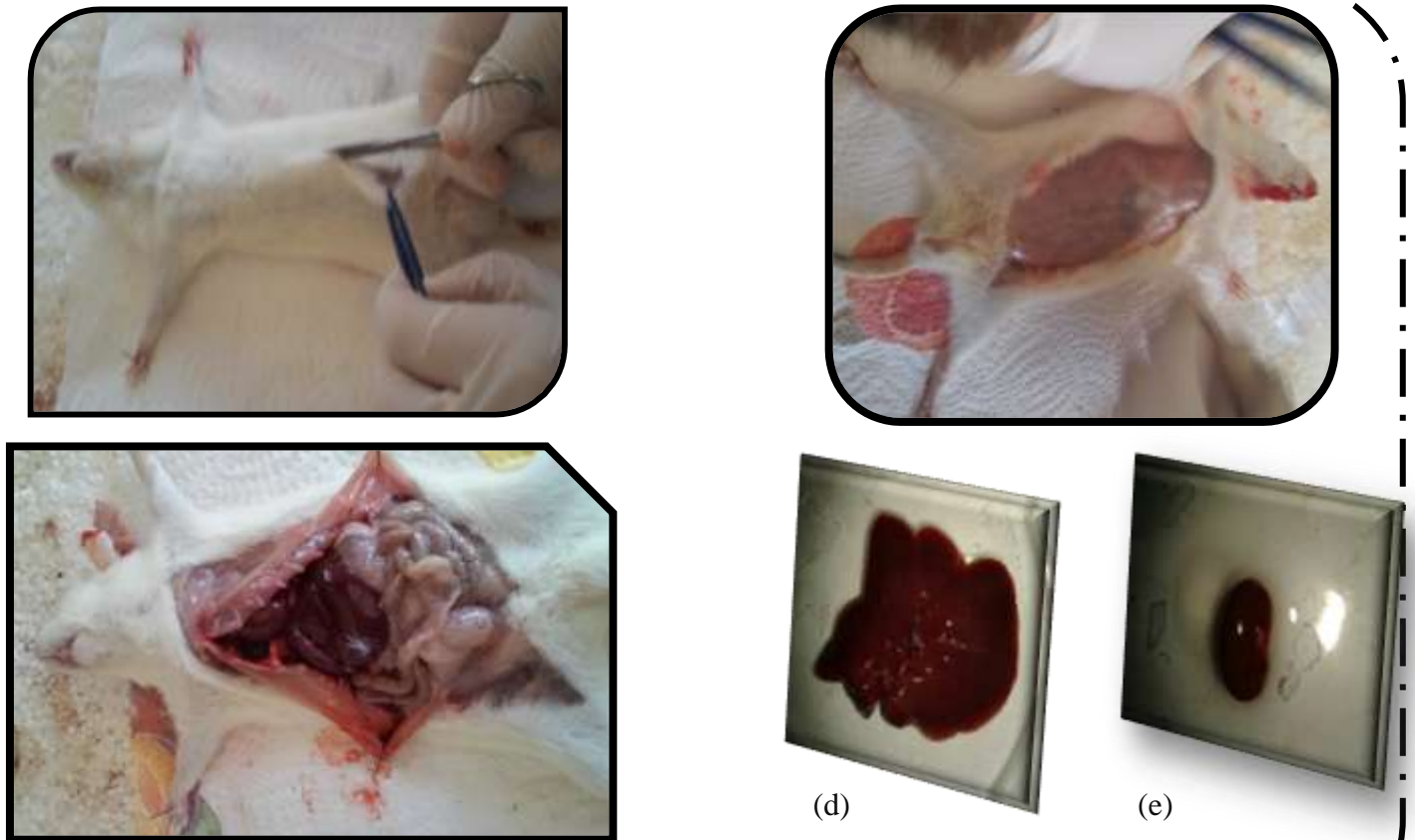


Figure 11 : la dissection et la récupération des organes

## II.6. Dosage des paramètres biochimiques

Les bilans lipidiques, rénal et hépatique sont réalisés à l'aide d'un appareil spécifique appelé l'automate

### II.6.1. la glycémie

C'est le taux du glucose dans le sang mesuré en général en g/l, il est déterminé *in vitro* à l'aide d'un appareil appelé « le glycomètre » qui utilise pour suivre des bandelettes réactives contenant un enzyme appelé GLUCOSE-OXYDASE qui permet l'oxydation du glucose dans le sang et la production de l'acide D gluconique et le peroxyde d'hydrogène.

### II.6.2 L'urée

Il s'agit de la détermination du taux d'urée. Elle est réalisée par une méthode enzymatique par laquelle l'uréase entre dans la réaction conduit à la formation d'un complexe vert à partir de la réaction des ions d'ammonium avec le salicylate et l'hypochlorite de sodium [66].

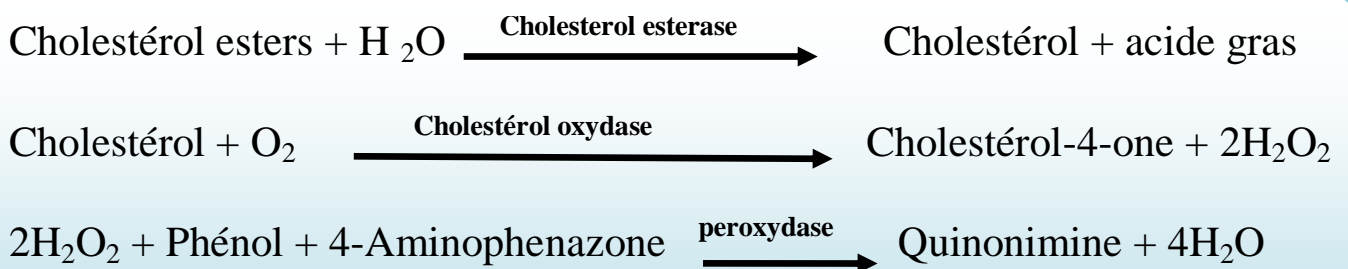


### II.6.3. La créatinine

La créatinine réagit avec le picrate alcalin pour produire un complexe coloré, déterminé dans une période de temps précis est proportionnel à la concentration de la créatinine dans l'échantillon [67].

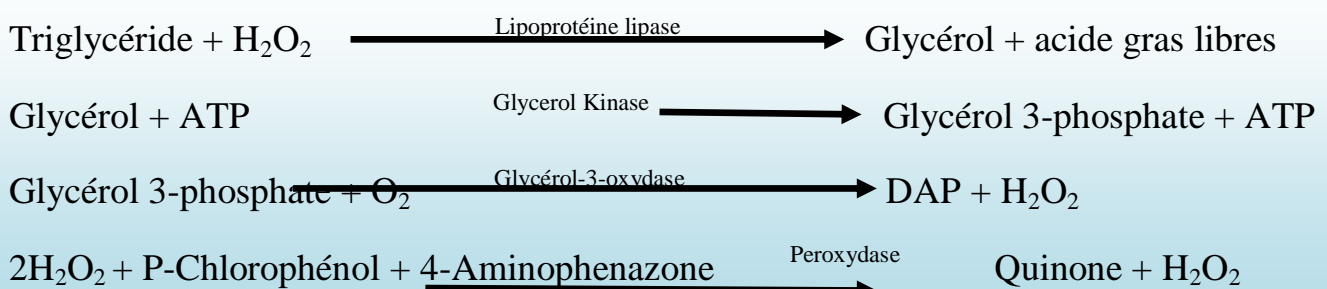
### II.6.4. Le cholestérol

Le principe est basé sur la mesure de cholestérol présent dans l'échantillon qui forme un complexe coloré à l'aide des enzymes, le cholestérol estérase, le cholestérol oxydase et la peroxydase comme il est décrit dans cette réaction [68].



### II.6.5. Les triglycérides

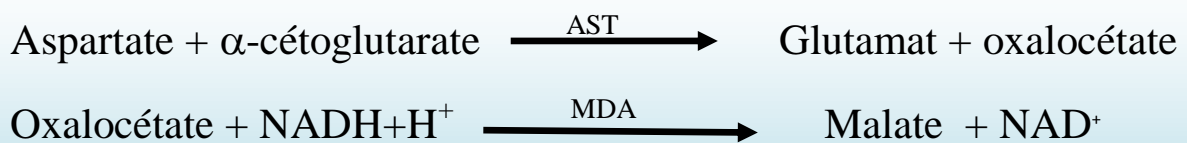
Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré résultant d'une série de réactions enzymatiques, l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon. [69].





### II.6.6. L'aspartate aminotransferase ASAT / GOT

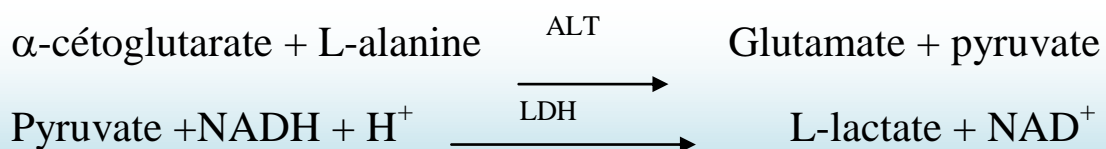
L'aspartate aminotransferase (ASAT) nommé aussi oxaloacetate de glutamate (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine à partir de l'aspartate au  $\alpha$ -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacetate. L'oxaloacetate est réduit en malate par la malate déshydrogénases (MDH) et le NADH, H<sup>+</sup> comme suit :



L'activité de l'aspartate aminotransferase est proportionnelle au taux de diminution de la concentration en NADH dans l'échantillon [70].

### II.6.7.L'alanine aminotransferase ALAT/GPT

Le principe est présenté selon le schéma réactionnel suivant :



La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine aminotransférase dans l'échantillon [71].

### II.6.8. la phosphatase alcaline PAL

La phosphatase alcaline (PAL) à PH 10.4 catalyse l'hydrolyse de p-nitrophenyl phosphate pour produire le p-nitrophenol et le phosphate. La formation de p-nitrophenol est mesurée par spectrophotométrie, ou elle est proportionnelle à l'activité

Catalytique de la phosphatase alcaline dans l'échantillon [72].



**II.7. Étude histologique**

## Prélèvements des pièces

Les organes (foie et reins) ont été prélevés, on les met séparément dans des boites de pétri afin de les laver plusieurs fois par de l'eau physiologique à 9 ‰ (Figure 12a), puis on retire tous les tissus adipeux adjacents et les éléments sanguins (Figure 12b) puis on les pèse (figure 12c), ensuite on coupe chaque organe en petits morceaux.



(B)



(C)

**Figure 12** : Le prélèvement des pièces

- Examen après prélèvements
- \* Fixation des pièces

Il s'agit de conserver les éléments histologiques pour respecter la structure tissulaire. Les liquides fixateurs sont très nombreux, nous avons utilisé le formol à 10% qui agit par coagulation ménagée du cytoplasme cellulaire et du noyau de leurs constituants (Figure 13).

Pour la réussite de la technique histologique le temps de la fixation est très important, elle doit être réalisée rapidement après la décapitation des rats et prélèvements des organes.

Nous avons retiré les pièces d'organes du formol après une période de fixation puis on rince avec l'eau distillée.

On fait des coupes transversales par l'anatomopathologiste.

Ensuite on place les échantillons dans des cassettes spéciales à parois trouées afin de permettre le passage des liquides au cours des manipulations qui suivent



*Figure 13 : La fixation des pièces*

**\* Déshydratation**

Les échantillons doivent être complètement déshydratés avant l'inclusion dans la paraffine car la paraffine n'est pas miscible à l'eau.

Puis ils sont immergés dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70, 95 et 100 %) par l'automate, puis dans des bains de xylène qui constitue un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. Ensuite, on met à l'étuve ce qui va permettre au xylène de s'évaporer des pièces anatomiques. Cette étape est réalisée par un appareil appelé le circulateur.

**\* Inclusion et réalisation des blocs**

Lorsque les échantillons sont complètement déshydratés et ne contiennent plus de solvant intermédiaire Nous laissons les pièces plonger (2 heures) dans des bains de paraffine liquide fondue à 60° C. Après, ils sont placés dans des moules appelés les barres de Leuckart, puis sont remplis de paraffine. Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion » renfermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour aboutir à une solidification rapide (10 à 15 min) du bloc de paraffine contenant le tissu.

**\* Confection des coupes**

Les blocs de paraffine ont été coupés au microtome de 4 à 5 µm.

Ils sont étalés sur des lames porte-objet, puis dépliés et fixés par une eau gélatineuse chauffée à 40 °C.

Les lames sont marquées au nom des différents lots à l'aide d'un crayon d'argent, ensuite séchées dans une étuve à 100 °C pendant 1 heure.

**\* Coloration et montage**

Il existe plusieurs méthodes de coloration qui varient en fonction des tissus. La méthode de l'Hématéine-Eosine (HE) est la plus utilisée, cette étape est effectuée dans le laboratoire d'anatomie pathologique, CHU de Sétif. La coloration est faite selon les étapes suivantes :

-Déparaffiner les échantillons et faire déposer les coupes dans un bain de xylène pendant 10 minutes. La réhydratation des coupes se fait par le passage dans un bain d'éthanol pendant 10 minutes puis hydrater les lames par l'eau du robinet.

-Immerger les coupes dans un bain d'Hématéine (10 minutes) qui colore en bleu les structures basophiles (noyaux cellulaires), puis rincé à l'eau courante.

Le deuxième colorant utilisé est l'éosine qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasmes cellulaires). Rincer à l'eau courante.

Le montage consiste à fixer une lamelle en verre sur les coupes histologiques.

Coloration a pour but :

La protection mécanique des coupes.

La protection chimique des colorants.

Sécher les lames puis observer au microscope optique équipé d'un appareil photographique.



*Circulateur*



*Appareil à inclusion*



*Moule Leukart*



*Réalisation d'un bloc*



*Plaque réfrigérée*



*Bacs de coloration*



*Lame colorée*

Figure 14 : matériels et technique utilisé dans les coupe histologique

**III. Analyses statistiques**

Les résultats des tests effectués *in vitro* et *in vivo* sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD et moyenne  $\pm$  SEM respectivement. La différence entre le contrôle et les différents groupes, est déterminée par le ANOVA univariée suivie du test de Dunnett/Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification par le logiciel (Graph Pad. Prism. V 5.00). Les valeurs de  $p \leq 0.05$  sont considérées statistiquement significatives.



## Les résultats et discussion

### I. Caractérisation de l'huile de *Nigella sativa* L

#### ➤ Rendement de l'extraction

Dans la littérature, les graines de *Nigella sativa* L renferment des taux élevés en huile totale, compris entre 39.7 et 52.% (Ashraf *et al*, 2006; Ramadan et Mörsel, 2002) [34,73]. Cette variation dans la teneur en huile des graines est due à plusieurs facteurs tels que le environnement (Cheihk-Rouhouet *al.*,2007)[35], la méthode d'extraction (Atta,2003,RamadanetMörsel, 2002) [34,74]. et l'espèce utilisée (KökdiletHilmaz,2005) [75]. Dans ce travail, le rendement de l'extraction de l'huile totale, a été estimé à  $25.45 \pm 3.5\%$  (Tableau 5).

La chromatographie sur colonne a permit d'extraire l'huile neutre totale ( $95.30 \pm 0.6\%$ ) et la fraction polaire totale à un taux de  $4.70 \pm 0.40\%$  (Tableau 5). L'huile totale est constituée de deux fractions majeures; la fraction neutre (apolaire), qui est la plus importante présentant environ 97%, et la fraction polaire qui ne présente que 3% de l'huile.

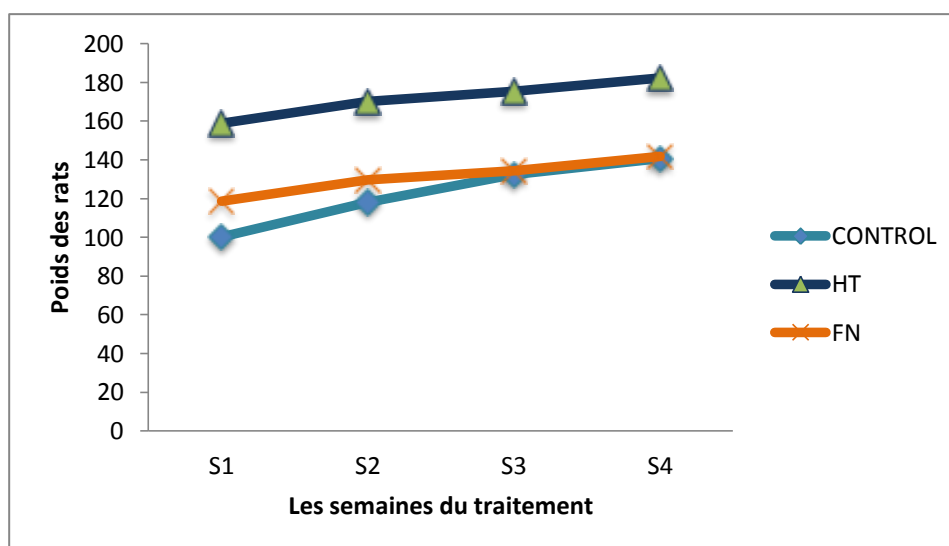
Nos résultats sont semblables aux résultats trouvés par Ramadan et Mörsel (2002) [34]. qui ont obtenu 3-4% de la fraction polaire et 96-97% de la fraction neutre. Cette ressemblance des résultats est due à la l'utilisation du même procédé d'extraction.

**Tableau 5** : le rendement de l'extraction de l'huile totale.

Fractions	Rendement d'extraction %
L'huile totale	$25.45 \pm 3.5\%$
La fraction a polaire (neutre)	$95.30 \pm 0.6\%$
La fraction polaire	$4.70 \pm 0.40\%$

## II. Les résultats de la variation du poids

### ➤ Influence du traitement sur le poids corporels des rats



**Figure 15:** Effet du traitement sur le poids des rats

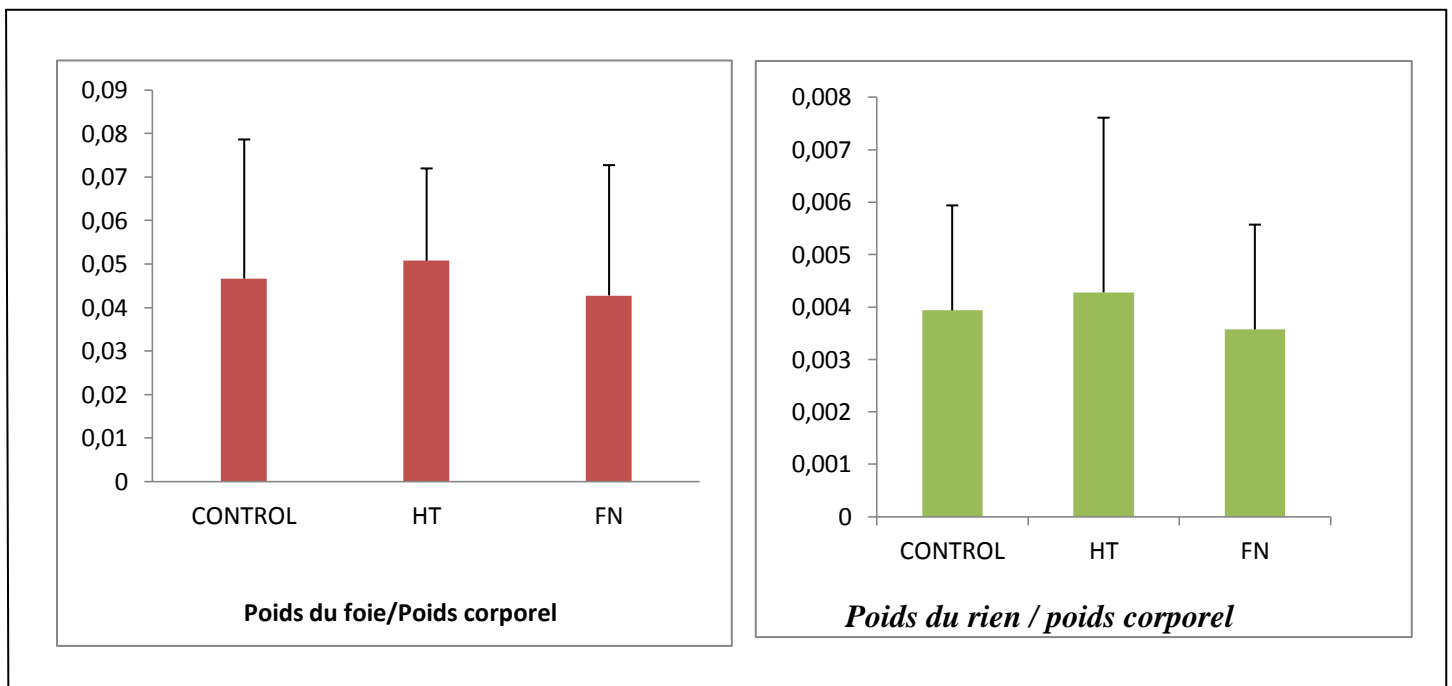
les résultats obtenus de la variation du poids corporel des groupes des rats étudiés rats normaux, rats traités par huile total de *Nigella sativa L* et rats traités par la fraction neutre de l'huile après un traitement quotidien de 28 jours avec des doses de 400mg/ml et 300 mg/ml respectivement avec d'eau distillée.

Les résultats obtenus montrent que le groupe témoin subit une augmentation du poids pendant la période du traitement de 40,6 g, tandis que les autres groupes traités par HT et FN montrent une augmentation presque identique pendant la même période du traitement de 23,23 g et 23,15 respectivement, mais cette augmentation est faible par rapport au groupe témoin, ce qui indique que la consommation de huile de la plante à une influence sur le poids des rats, mais cette influence n'a aucune corrélation avec la toxicité de la plante, puisque

aucun des signes physiques ou comportementaux de toxicité comme la sommeil, l'hyperactivité, l'agitation, une maie respiratoire ou des convulsions pourraient être signalé. Ces résultats sont comparable à celles des travaux de (Le *et al.*, 2004) [76]. qui ont été réalisés sur

un modèle des rats et avec l'extrait éthérique de cette plante, aussi bien le travail de (Mohammad Aziz Dollah *et al.*, 2013) [77]. est confirmé ces résultats avec une étude expérimental sur des rats (**Figure 17**) .

### ➤ Influence du traitement sur le poids des organes



**Figure 16** : Effet du traitement sur le poids des organes

Concernant, l'influence de HT et FN sur le poids du foie et des reins, notre résultats montrent qu'il ya une augmentation légère du poids des reins et du foie pour le groupe traité avec HT par rapport au control, mais cette augmentation n'est pas significative. Pour le groupe traité par FN, les valeurs trouvées sont presque comparable à celle du control; ce qui montre que la FN n'exerce aucun influence sur le poids de ces organes. Ces résultats confirment les résultats de (Nada Mahdi Al-Khafaji, 2013) [78]. qui ont effectué une étude sur l'huile de N. sativa.

### III. Les résultats des paramètres biochimiques

Tableau 6 : Représente les résultats de dosage biochimique

Biochemical Parameters	Control	TO	NLF
ASAT	138 ± 16,36	160,66 ± 22,48	141 ± 26,62
ALAT	61 ± 5,47	72,34 ± 9,72	56,16 ± 12,38
PAL	194,83 ± 28,43	257,66 ± 27,74	230,67 ± 22,73
GLY	0,83 ± 0,12	1,0 ± 0,16	0,86 ± 0,19
CHOL	0,67 ± 0,06	0,9 ± 0,07	0,77 ± 0,18
TRIG	0,65 ± 0,09	0,81 ± 0,09	0,75 ± 0,11
Urée	0,45 ± 0,25	0,55 ± 0,13	0,49 ± 0,11
Créatinine	6,15 ± 0,84	7,81 ± 0,5	6,53 ± 0,69

#### ➤ Influence du traitement sur les paramètres biochimiques

Dans le but d'exploiter la toxicité des extraits des graines de *Nigella sativa L* le dosage des marqueurs d'intégrité hépatique (ASAT, ALAT, PAL), rénale (Urée, Créatinine) et lipidique (cholestérol, Triglycéride) ont été réalisés, ainsi qu'une étude histologique est réalisée sur des coupes histologiques du foie et des reins à la fin de l'expérience, sur les rats, traités avec l'huile totale et la fraction neutre des graines de *Nigella sativa, L* ses traitements révèlent une absence de toxicité dans le foie et les reins (**Figure 16**).

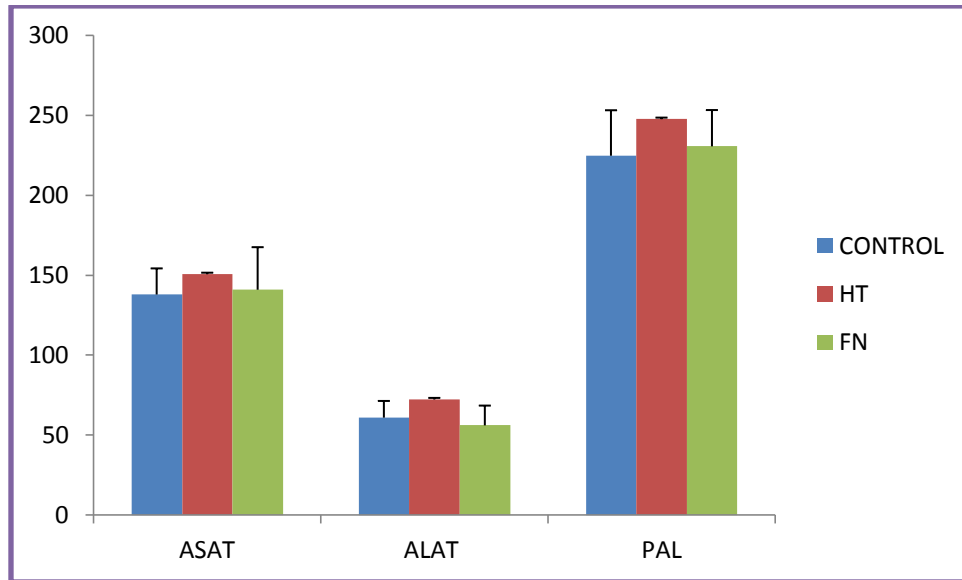


Figure 17: Effet du traitement sur le bilan hépatique

Les résultats montrent que les marqueurs hépatiques révèlent, d’une manière générale, que les différents traitements ne présentent, a priori, aucun effet toxique. En effet, la concentration de l’ALAT, ASAT, et PAL ne présentent aucun changement significatif dans les groupes traités par l’huile total et la fraction neutre par rapport au groupe témoin.

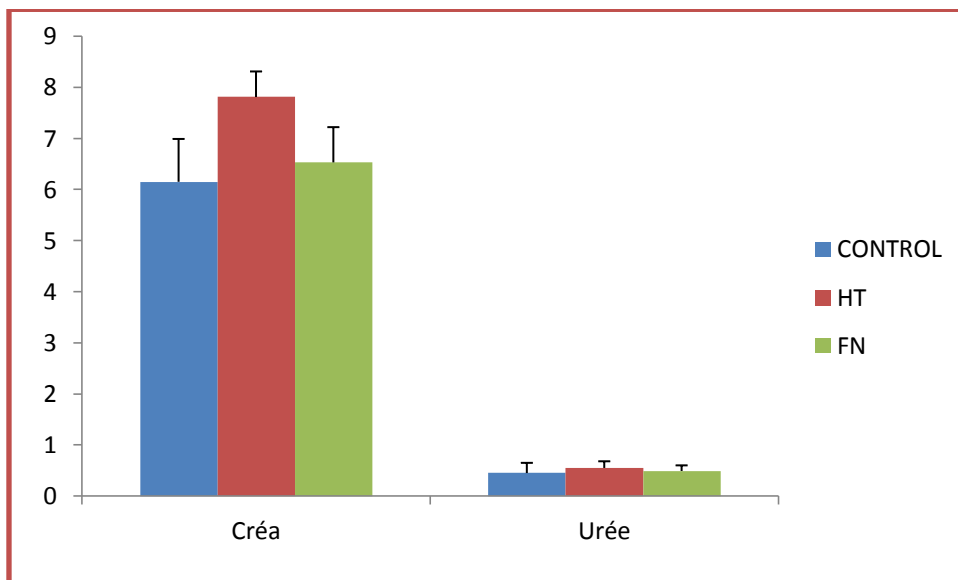
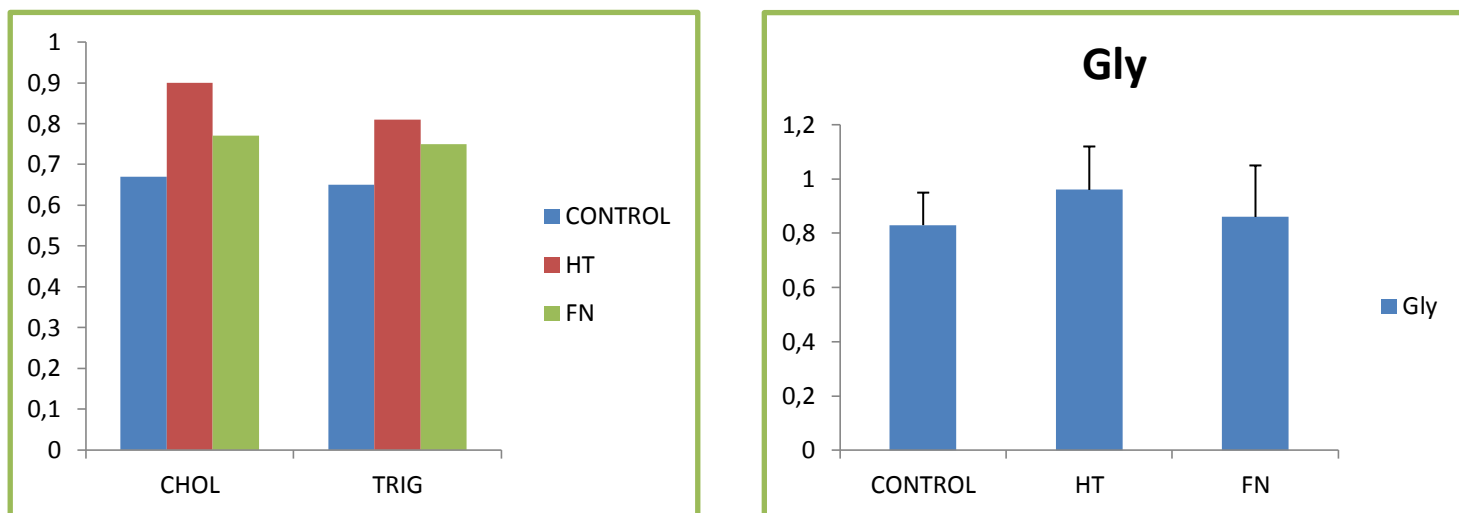


Figure 18 : Effet du traitement sur le bilan rénal

Pour le bilan rénal, on note qu'il n'y a pas une différence significative dans le taux de l'urée et la créatinine entre les différents groupes traités en comparant avec le groupe témoin (**Figure 17**)



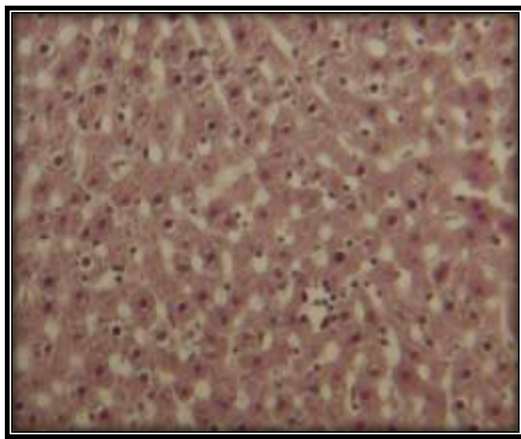
**Figure 19** : Effet du traitement sur le bilan lipidique **Figure 20** : Effet du traitement sur la glycémie

Nous avons estimé le changement dans le bilan lipidique (Cholestérol, Triglycéride) et le changement dans la glycémie, les résultats trouvés indiquent que le taux du Chol, Trig et glucose ne signale pas la présence d'un changement significatif entre les groupes étudiés (HT et FN) par rapport au groupe témoin (**Figure 18, 19**).

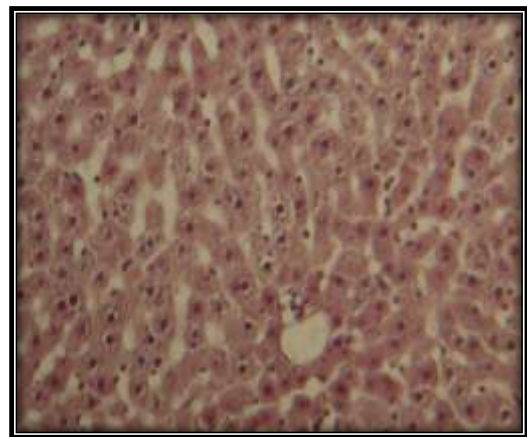
D'après les résultats des dosages des paramètres biochimiques, nous avons estimé que l'huile total et la fraction neutre des graine de *Nigella sativa L* avec des concentrations de 400 mg/kg/jours et 300 mg/kg/jours pendant une période de 28 jours ne présentent aucune toxicité sur le foie et les reins, ces résultats sont comparable aux résultats trouvées par sobhi et ces collaborateurs avec les mêmes fractions *in vivo*, sur un modèle animale et *in vitro* sur des tranche du foies (Widad *et al.*,2012) [59]. aussi bien d'autre étude sur la toxicité des graines de cette plante à été montré l'absence de la toxicité sur le foie et les reins des rats, par l'évaluation des paramètres biochimique et l'hépatotoxicité (Mohammad Aziz Dollah *et al.*, 2013) [77].

#### IV. Résulta des coupe histologique

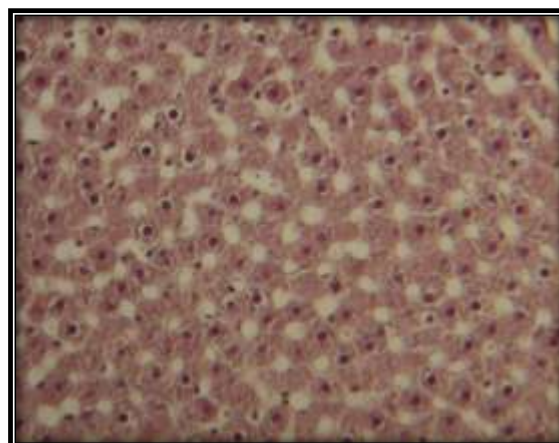
Les résultats de l'analyse histo-pathologique du foie et des reins sont présentés sur la figure. Comme les résultats du dosage des marqueurs hépatiques, qui n'ont révélé aucune toxicité apparente, l'analyse histo-pathologique, montre que ces traitements ne causent aucunes lésions hépatiques et rénal (**Figure 20, 21**).



**Control**



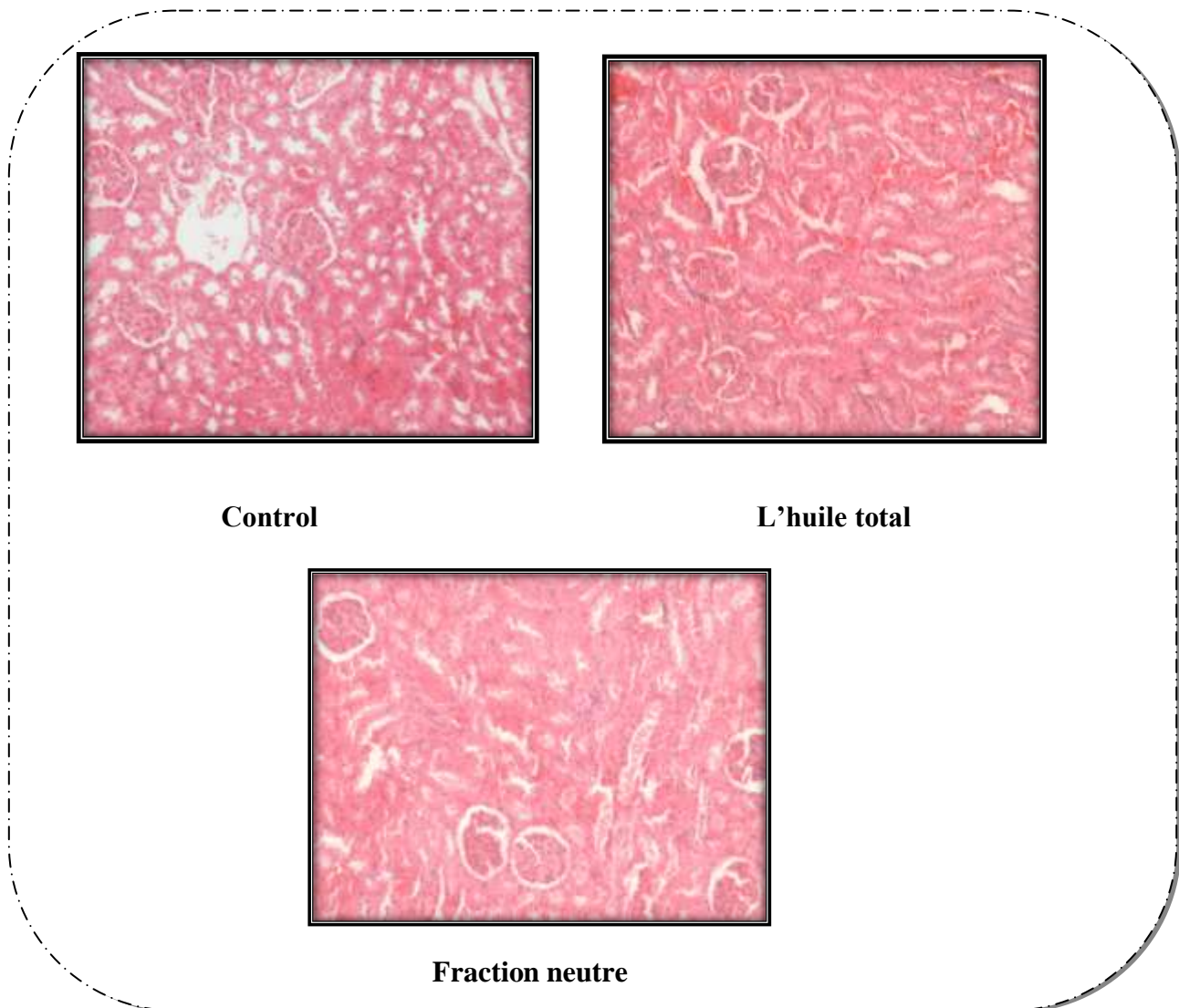
**Huile total**



**Fraction neutre**

**Figure 21:** coupes histologique du foie des différents groupes

Le tissu hépatique des rats du groupe témoin présente un aspect normal, composé de plusieurs lobules. Aussi bien, Les tissus rénales des groupes traités par huile total et fraction neutre ne présentent aucun changement structurale.



**Figure 22 :** coupes histologique des reins des différents groupes

Ce qui indique qu'il n'y a pas un changement fonctionnel lié aux changements structurales.

Ces résultats concordent avec les résultats de Mohammad Aziz Dollah et ses collaborateurs qui ont été prouvés que cette plante ne présente aucune toxicité hépatique ou rénale (Mohammad Aziz Dollah *et al.*, 2013) [77].



## CONCLUSION

La présente étude a permis d'évaluer la toxicité de l'huile totale et la fraction neutre des graines de *Nigella sativa L in vivo* à partir d'un modèle animal (rats albino wister), par l'estimation des paramètres biochimique rénale, hépatique et lipidique dans le plasma et aussi sur des coupes histologique du foie et des reins, Les résultats indiquent une absence de traces majeures de toxicité hépatique et rénal et ce dans les conditions appliquées, c'est-à-dire, quantité des extraits administrés et durée du test.

- Le traitement des rats par l'huile totale et la fraction neutre de *Nigella sativa L* pendant un mois n'a aucun effet significatif sur le poids corporel des rats et le poids du foie et des reins
- Les paramètres biochimiques du foie et des reins ne présentent aucun changement significatif
- Au niveau histologique, il n'y a pas des changements structurales au niveau de la structure hépatique ou rénale.

A la lumière de ces résultats on conclue que les deux extraits de *Nigella sativa L* (huile totale, fraction neutre) ne présentent aucun signe de la toxicité sur le foie et les reins avec des doses de 400 mg/kg pour HT et de 300 mg/kg (FN), mais on doit signaler que l'huile total a provoqué des changements plus que la fraction neutre, mais ces changement restent non significatifs par rapport au control. Donc la recherche resté ouverte à une autre étude approfondie devrait être réalisée pour confirmer la toxicité des huiles de cette plante.

## Les references bibliographique :

- [1] **Savoboda K et SavobodaT (2000)** ;secretory structures of aromatic and medicinal plants ;Ed :microscopix publications ;p 7-12.
- [2] **Bourgauda F,gravot A, melesi S et gontier E (2001)** ;production of plant secondary metabolites :a historical perspective ;plant science 161, p 839-851.
- [3] **Adel Shabana, Ayman El-Menyar, Mohammad Asim, Hiba Al-Azzeh, Hassan Al Thani (2013)**. Cardiovascular Toxicology journal, 13, pp 9-21 ;Cardiovascular Benefits of Black Cumin (*Nigella sativa* )
- [4] **Guignard J.L. (2001)**. In : *Botanique systématique moléculaire . 1 Eme Edition*Masson (Paris), P: 304.
- [5] **Antuono, F., Hamaza, K. (2002)** Composition of *Nigella sativa* and *Nigella damascene* from Egypt. *Planta medica*. **27**: 142 -149
- [6] **Badary, O.A, Taha, R.A, Gamal El-Din, A.M, Abdel-Wahab, M.H. (2003)** Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug and chemical toxicology* **26**: 87-98.
- [7] **Anton, R, Teuscher, E, Lobstein-guth ,Bauermann, Werner, M, Rohrner, C, et al (2005)**. *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles* paris: Médicales internationales
- [8] **Ali B.H, Blunden G, (2003)**. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa* , *Phytother. Res.* 17 299–305
- [9] **Abdel-Wahab, M, & Ali, S (2005)**. Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (glove) in rats during aflatoxicosis. *J Appl Toxicol* , 25, 218-223
- [10] **Ghedira, K (2006)** La nigelle cultivée : *Nigella sativa L.* (Ranunculaceae). *Phytothérapie*, **4**: 1-7.
- [11] **Negre, R (1962)**. Petite flore des régions arides du Maroc occidental, édition CRNS Paris. T1, pp. 237-238
- [12] **Kökdil G, Delialioğlu N, Özbilgin B, EmekdaşG (2005)**. Antilisterial activity of *ballota* species growing in turkey antibacteria activity screening of *nigella L.* species growing in turkey. Mersin University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, Yenişehir Campus, 33169 Mersin, TURKEY. *Ankara Ecz Fak. Derg.*, 34 (3) 183 – 190

- [13] **Ozenda P (2000)**. Les végétaux : organisation et diversité biologique. 2<sup>e</sup> édition Dunod, Paris,
- [14] **Spichiger R.E ; Savolainen ,V.V; Figeatm ; Jeanmonod D (2002)**. Botanique systématique des plantes à fleurs. 2<sup>e</sup> édition Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.
- [15] **Ramadan MF, Asker MMS, Tadros A (2012)**. Antiradical and antimicrobial properties of coldpressed black cumin and cumin oils. *European Food Research and Technology* :234: 833–844.
- [16] **Ghedira K, Le Jeune R (2010)**. Huile de nigelle cultivée, *Nigella sativa* L (Ranunculaceae). *Phytothérapie* ; **8**: 124–128.
- [17] **Greenish, H (1880)**. *Contribution to the Chemistry of Nigella sativa* (Vol. 10). Pharmac J Trans.
- [18] **Aboutabl, E, El-azzouny, A, & Hammerschmidt, F (1986)**. *Aroma volatiles of Nigella sativa L. seeds. Progress in Essential Oil Research*. Berlin, New York; Walter de Gruyter & Co.
- [19] **Nergiz C ; Ünal K (1991)**. Effect of the method of extraction on the total polyphenol and 1,2-diphenol content and stability of virgin olive oil. *J. Sci. Food Agric* : 56 79-84
- [20] **Dominic Ominicz, A, Lazar, D, Das, A, & Bohr, D (1991)**. Lipid Bilayer in genetic Hypertension. *Hypertension*, **18**, pp. 748-757.
- [21] **Hashim, F, & El-kiey, M. (1982)**. *Nigella sativa* seeds of Egypt. *J Pharm Sci UAR* (3), 121-133.
- [22] **Martin, G, Duez, H, Blanquart, C, V, B, Poulain, P, Fruchart, J, et al (2001)**. Statin-induced inhibition of the Rho-signaling pathway activates PPARalpha and induces HDL apoA-I. *J Clin Invest* (107), 1423-1432.
- [23] **Abdel-aal, E, & Attia, R. (1993)**. Characterization of Black cumin (*Nigella sativa*) seeds. *Alexandria Sci Exch J*, (14), 497-482
- [24] **Cheikh-rouhou, Besbes&Esbes, S, Lognay, G, Blecker, C, Deroanne, C, & H, A (2008)**. Sterol composition of black cumin (*Nigella sativa*) and Alepp pine (*Pinus halepensis* Mill.) seed oils. *J Food Comp Analysis* (21), 162-168.
- [25] **Al-jassir S.M (1992)**. Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chemistry*: 45 239-42

- [26] **Merfort, I, Wray, V, Barakat, H, Hussein, S, Nawwar, M, & Willuhn, G (1997).** Flavonoid triglycerides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochemistry* (46), pp. 359-363
- [27] **Benhaddou Andaloussi, A (2009).** Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa* L. : sites d'action cellulaires et moléculaires. Thèse de doctorat, Université de Montréal, Département de pharmacologie, Montréal.
- [28] **Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008).** Biological effects of essential oils –A review. *Food and Chemical Toxicology*; **46**: 446–475.
- [29] **Bruneton J(1999).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales (3<sup>ème</sup> Ed), Technique et Documentation (Paris); pp: 484. 78 *Références bibliographiques*
- [30] **Pourmortazavi SM, Hajimirsadeghi SS (2007).** Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of Chromatography A*; **1163**:2–24.
- [31] **Maffei ME (2010).** Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. *South African Journal of Botany*; **76**:612-631.
- [32] **Cseke LJ, Kaufmanb PB, Kirakosyan A (2007).** The Biology of Essential Oils in the Pollination of Flowers. *Natural product communications*; **2** (12):1317-1336.
- [33] **Burits M, Bucar F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*. **14**: 323-328. repéte
- [34] **Ramadan M. F, Mörsel J.T (2002b).** Direct isocratic normal-phase HPLC assay for fat soluble vitamins and  $\beta$ -carotene in oil seeds. *European food research and technology*. **214**: 521-527.
- [35] **Cheikh-Rouhou S, Besbes S, Hentati B, et al (2007)** *Nigella sativa* L.: chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chem* 101:673-
- [36] **Ghosheh OA, Houdi AA, Crooks PA (1999)** High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinines and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa*L.). *J Pharm Biomed Anal* 19(5):757-62
- [37] **Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, Amoli MAR (2003)** Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran *Z. Naturforsch* **58c**:629-31
- [38] **Ramadan MF, Mo'rsel JT (2003)** Analysis of glycolipids from black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) oil seeds. *Food Chem* **80**:197-204

- [39] **Kruk, I, Michalska, T, Lichszte, K, Kladna, A, & Aboul-enein, H (2000).** The effect of thymol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species. *Chemosphere* , **41**, 1059-1064
- [40] **Daba, M, & Abdel, M (1998).** Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett* , **95**, 23-29
- [41] **Atta, M.B, Imaizumi, K (1998)** Antioxidant activity of nigella (*Nigella sativa* L.) seeds extracts. *JAPAN Oil Chemists' Society*. **47**: 49-54
- [42] **El-Saleh, S.C, Al-Sagair, O.A, Al-Khalaf, M.I (2004)** Thymoquinone and *Nigella sativa* oil protection against methionine-induced hyperhomocysteinemia in rats. *International journal of cardiology*. **93**: 19-23.
- [43] **Cemek, M, Enginar, Karaca, T, Unak, P. (2006)** *In vivo* radioprotective effects of *Nigella sativa* L oil and reduced glutathione against irradiation-induced oxidative injury and number of peripheral blood lymphocytes in rats. *Photochemistry and photobiology*. **82**: 1691-1696.
- [44] **Nair MK, Vasudevan P, Venkitanarayanan K.** Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 2005; 16: 395–398
- [45] **Khan, M (1999).** Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology*, 7 (1), 15-35
- [46] **Agrawal R, Kharya M.D, Shrivastava R. (1979).** Antimicrobial anthelmintic activities of the essential oil of *Nigella sativa* Linn. *Indian journal of experimental biology*. **17**: 1264-1265
- [47] **Aljabre SHM, Randhawa MA, Akhtar NOM, Alqurashi AM, Aldossary A. (2005).** Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *J. Ethnopharmacol.*, **101**: 116–119.
- [48] **Salem M.L (2005)** Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. Seed. *International Immunopharmacology*. **5**: 1749-1770.
- [49] **Abdel-Fattah A.M, Matsumoto K, Watanabe H. (2000).** Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *European Journal of pharmacology*. **400**: 89-97
- [50] **El-Dakhkhny M, Mady NI, Lember N, et al (2002)** *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *J Ethnopharmacol* 81(2):161-4

- [51] **Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H (2004)** Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and anti-inflammatory drug. *Phytother Res* 18(3):195-9
- [52] **Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, et al (1995)** Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med* 61:33-6
- [53] **Al-Hader A, Aqel M, Hasan Z (1993)**. Hypoglycemic effects of the volatile oil Of *Nigella sativa* seeds. *International Journal of Pharmacognosy*. **31**: 96-100.
- [54] **Hawsawi Z.A, Ali B.A, Bamosa A.O. (2001)** Effect of *Nigella sativa* (Black seed) and thymoquinone on blood glucose in albino rats. *Annals of Saudi medicine. Med.* **21**: 242-24
- [55] **Altan, M.F, Kanter, M, Donmez, S, Kartal, M.E, Buyukbas, S (2007)** Combination therapy of *Nigella sativa* and human parathyroid hormone on bone mass, biomechanical behavior and structure in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta histochemica*.109 : 304-314
- [56] **El-dakhakhny, M. et al (2000)**. Effect of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *J Ethnopharmacol* , 72 (1/2), pp. 299-304.
- [57] **Salomi, M.J. Nair, SC. and Panikkar, KR<sup>2</sup> (1991)**. Inhibitory effects of *Nigella sativa* and saffron (*Crocus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice. *Nutr Cancer*, **16**, pp. 67-72.
- [58] **Swamy, SM. and Tan, BK. (2000)**. Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds. *J Ethnopharmacol*, **70**, pp. 1-7.
- [59] **Widad S, Bachra Kh, Djebbar A, Caroline S, Marie- Jeanne M, Pedro Buc C, Pierre D, Mustapha B (2012)**. Effects of lipid extracts from *Nigella sativa* seeds on the reduction of ATP and the inhibition of alpha glucosidase activity. *International Journal of Biochemistry and Biotechnology*.. 1: 137-145
- [60] **Ragheb, A, Attiat, A, Eldin, W, Elbarbry, F. S, & Shoker, A (2009)**. The protective effect of thymoquinone, an anti-oxidant and anti-inflammatory agent, against renal injury : A review. *Saudi J Kidney Dis Transpl* , 20, 742-752.
- [61] **Reichl F. X, (2004)** Guide Pratique de Toxicologie, 1<sup>ière</sup> édition, De Boeck&Larcier, Bruxelles, pp 03-08
- [62] **Chavéron H, (1999)** Introduction à la Toxicologie Nutritionnelle, Ed TEC& DOC, pp 04-41

- [63] **Shin BS, Hwang SW, Bulitta JB, Lee JB, Yang SD, Park JS, Kwon MC, Kim DJ, Yoon HS, Yoo SD. (2010).** Assessment of bisphenolA exposure in Korean pregnant women by physiologically based pharmacokinetic model. *J Toxicol Environ Health A* 73, 1586-1598
- [64] **F. Lapostolle , H. Gourlain , F. Adnet , C. Lapandry (1999)** Identification des toxiques et dosage Médecine d'urgence, p. 67-79
- [65] **Tominaga T, Negishi T, Hirroka H, Miyachi A, Inoue A, Hayasaka I, Yoshikawa Y (2006).** Toxicokinetics of bisphenol A in rats, monkeys and chimpanzees by the LC-MS/MS method. *Toxicology* 226, 208-217.
- [66] **Fawcett JK, Scott JE (1960).** A rapid and precise method for the determination of urea. *J. Clin. Pathol.*; 13 : 156-159.
- [67] **Murray RL (1984a).** Creatinine. (1261-1266). In : *Clinical Chemistry ; Theory, Analysis and Correlation*. Kaplan LA, Pesce AJ. (Ed.) C.V. Mosby Company St. Louis, Toronto Princeton .
- [68] **Naito HK (1984) .** Cholesterol. (1194-1206). In : *Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation*. Kaplan LA, Pesce AJ. (Ed.) C.V. Mosby Company St. Louis, Toronto Princeton .
- [69] **Buccolo G, David H (1973).** Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clin. Chem.*; 19 (5) : 476-482.
- [70] **Murray RL (1984b).** Aspartate aminotransferase. (1112-116). In : *Clinical Chemistry ; Theory, Analysis and Correlation*. Kaplan LA., Pesce AJ. (Ed.) C.V. Mosby Company St Louis Toronto Princeton.
- [71] **Murray RL (1984c).** Alanine aminotransferase. (1088-1090). In : *Clinical Chemistry ; Theory, Analysis and Correlation*. Kaplan LA., Pesce AJ. (Ed.) C.V. Mosby Company St. Louis, Toronto Princeton.
- [72] **Wenger C, et al (1984).** Alkaline phosphatase. (1094-1098). In : *Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation*. Kaplan LA., Pesce AJ. (Ed.) C.V. Mosby Company St. Louis, Toronto Princeton.
- [73] **Ashraf M, Ali Q, Iqbal Z (2006).** Effect of nitrogen application rate on the content and composition of oil, essential oil and minerals in black cumin (*sativa*) seeds. *Nigella Journal of the Science of food and agriculture.*; 86: 871-876.
- [74] **Atta Mohamed Bassim (2003).** Some characteristics of nigella (*Nigella sativa L.*) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry.*; 83(1): 63-68
- [75] **Kökdil Gamze, Hüseyin Yılmaz (2005).** Analysis of the fixed oils of the genus *Nigella L.*(Ranunculaceae) in Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*; 33 (12):1203-1209.

**[76 ] Le PM,Benhaddou-Andaloussi A,Elimadi A,Settat A,Cherrah Y,Haddad PS (2004) . the Petroleume extract of Nigella sativa exerts lipid-lowering and insulin–sensitizing Actions in the rat.Journal of Ethnopharmacology;94:251-259.**

**[77] Mohammad Aziz Dollah, Saadat Parhizkar, Mohammad Izwan (2013). Effect of Nigella sativa on the kidney function in rats . Avicenna Journal of Phytomedicine . 3: 152-158**

**[78] Nada Mahdi Al-Khafaji (2013). Protective Effect of Crude Oil of Nigella Sativa on Liver in Male Albino Mice Treated with Low Toxic Dose of Paracetamol Medical Journal of Babylon-Vol. 10- No. 4 .**



## **Résumé:**

L'objectif de notre travail est d'évaluer de la toxicité de l'huile totale et la fraction neutre des graines de *Nigella sativa in vivo*.

Dans une première étape nous avons procédé à extraire l'huile total des graines de *Nigella sativa* puis on a récupéré la fraction neutre de l'huile total à travers une petite colonne, les deux extraits ont un rendement de  $25.45 \pm 3.5\%$  pour huile total, et  $95.30 \pm 0.6\%$  pour la fraction neutre et de  $4.70 \pm 0.40\%$  de la fraction polaire.

Le test de la toxicité est réalisée *in vivo* sur un model de rats males *wister albinos* pendant un mois et avec une dose de 400 mg/kg pour l'huile totale (HT) et de 300 mg/kg pour la fraction neutre (FN) en comparaison avec un groupe témoin. Les analyses biochimiques ont montré que les résultats des bilans hépatique, rénal et lipidique des groupes traités par HT et FN par rapport sont comparable au groupe témoin. Ainsi que les coupes histologiques du foie et des reins ne présentent aucun changement structural en comparant avec le témoin.

Les résultats indiquent une absence des signes majeurs de toxicité liée à cette plante dans les conditions expérimentales appliquées ; quantité des extraits administrés et durée du test.

**Les mots clés :** *Nigella sativa*, huile totale, fraction neutre, toxicité, paramètres biochimique

## Abstract

The aim of our study was to evaluate the toxicity of the total oil and the neutral fraction of *Nigella sativa L* seeds *in vivo*.

In a first step we made the total extract oil from the seeds of *Nigella sativa* and then recovered the neutral fraction of the total oil through a small column, the two extracts had a yield of  $25.45 \pm 3.5\%$  for total oil and  $95.30 \pm 0.6\%$  for the neutral fraction and  $4.70 \pm 0.40\%$  of the polar fraction.

The test of toxicity is performed *in vivo* on a model of male Wister albino rats for a month and with a dose of 400 mg / kg for the total oil (TO) and 300 mg / kg for the neutral fraction (NF) in comparison with a control group. The biochemical liver function parameters have shown that the results of assessments liver, hepatic , renal, and lipid groups treated with TO and NF compared to the control group. And the histological sections of liver and kidney slices show no structural change comparing with the control.

The results indicate that no major signs of toxicity related to the plant in the testing conditions; amount of administered extracts and test time.

Keywords: *Nigella sativa L* , total oil, neutral fraction, toxicity, biochemical parameters

## التلخيص

الهدف من دراستنا هو تقييم مدى سمية الزيت الاجمالي و الجزء المحايد لحبة البركة ولقد اجريت هذه الدراسة داخل جسم كائن حي

لقد قمنا في المرحلة الاولى باستخلاص الزيت الاجمالي من حبة البركة و الجزء المحايد من الزيت الاجمالي و ذلك باستعمال الكروماتوغراف وكان مردود الزيت الاجمالي  $25.45 \pm 3.5\%$  و الجزء المحايد  $95.30 \pm 0.6\%$

و الجزء القطبي  $4.70 \pm 0.40\%$

و تم تنفيذ الاختبار على نموذج من ذكور الفئران وستر البيضاء لمدة شهر بجرعة 400 مع/كغ بالنسبة لزيت الاجمالي و 300 مع/كغ بالنسبة لجزء المحايد و مجموعة شاهدة

ولقد اظهرت الاختبارات البيوكيميائية ان تأثير هذه المستخلصات على اختبار الكبد و الكلى و الدهون متقاربة مع مجموعة الفئران الشاهدة مما يدل على غياب سمية هذه المستخلصات. كما ان المقاطع النسيجية للكبد و الكلى لا تظهر أي تغير في الشكل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

تشير النتائج الى عدم وجود علامات التسمم الرئيسية المتعلقة بالنبت وذلك في ظروف الاختبار (الكمية و المدة).

الكلمات المفتاحية الحبة السوداء ، الزيت الاجمالي ، الجزء المحايد ، سمية ، اختبار بيوكيميائي