



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Etude théorique des effets biologiques de molécules bioactives extraites de la plante *Nigella sativa*

Présenté par :

KARA Cheima nada rihane & BOURSAS Djoumana

Le: 22/09/2020

Jury

MAAMERI Zineb

MC.A- UFM Constantine

Président

MOSBAH Asma

MC.A- UFM Constantine

Rapporteur

MADI Aicha

MC.B- UFM Constantine

Examinatrice

Année universitaire

2019/2020



REMERCIEMENT

*Avant tout, nous remercions **Dieu** tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci **ALLAH** de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice **Dr.MOSBAH ASMA** Enseignante au Département de Biologie Appliquée à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université **CONSTANTINE 1**, qui nous a encadrées et dirigées ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour ses conseils et la confiance qu'il nous accordé nous ont permet de réaliser ce travail.*

*Nous offrons nos plus sincères remerciements à membres jurées **MAAMERI Zineb** et **MADI Aicha** pour avoir accepté d'évaluer notre travail et pour ses précisions remarques pour corriger ce travail.*

*Un grand merci à tous les enseignants du département des sciences de la nature et la vie de l'université **CONSTANTINE1** et spécialement notre département de biochimie appliqué.*

*Nous remercions aussi tous les membres de la bibliothèque de Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université **CONSTANTINE 1**.*

Nos vifs et sincères remerciements s'adressent tout particulièrement à notre Université de Constantine 1 qui nous a procuré une bonne formation pendant ces 5ans.



Dédicace

Je tiens à exprimer d'abord mes profonds remerciements à ALLAH qui est toujours avec moi pour guidé mes pas et pour m'a donné la patience, le courage la santé, la volonté durant ces longues années d'étude. Et qui m'a aidée à accomplir ce modeste travail, malgré les obstacles qui s'opposent spécialement quand on n'a pas le choix sauf la continuation.

Je dédie ce travail de mon profond cœur :

À ma chère mère « **Yasmina** » ma source de vie, d'amour, de volonté, de patience, de force et de courage malgré son incapacité parfois, et de la tendresse qui est toujours présente et prête à sécher mes larmes. Sans toi ma vie n'aurait pas gout et je suis sûr que sans ton soutien, tes précieux conseils et ta prière je ne serais pas arrivé jusqu'ici. Je t'aime et je suis fière d'être ta fille.

À mon cher père « **Hicham** » Mercie d'avoir toujours avec moi, Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour ma formation. je vous aime qu'Allah vous protège.

À mes charmantes sœurs « **Sana** et **Hanin** » et À mes amoureux frères « **Fouad** et **Taki** » mes anges et mes fidèles compagnons dans les moments les plus délicats de cette vie .Vraiment je suis fière d'être ta grande sœur.

À toutes et tous mes amis sans acception surtout pendant ces 5 ans. À tous ceux qui m'aiment et qui ont cru en moi et qui m'aident même par un simple conseil, j'étais très heureux de vous connaître même si les distances ou les circonstances nous séparons , Ainsi que mes meilleures collègues et mes merveilleuse amies **Shimata** ,**Iman** ,**Nariman**, **Mariem** ,**Boutaina** et **Fadwa** spécialement **Rayen** et **Fatima** parce que nous échangeons le courage et le soutien à travers des longs appels pendant les mois du Corona Virus et une dédicace spéciale À mon binôme **Joumana** merci beaucoup.

À l'équipe de ma promotion de Biochimie appliqué d'année 2019-2020
Mercie pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

Chaima nada al raihane

Dédicace

**Malgré les obstacles qui s'opposent En dépit des difficultés qui s'interposent
Quand il y a la soif de continuation... Tout vient à point à qui sait attendre
À l'aide de Dieux tout puissant, qui guide mes pas pour la réalisation de ce
travail.**

Je dédie à :

**Ma très chère maman Fatiha qui a œuvré pour ma réussite, de par son
amour, son soutien, et ses précieux conseils, sa prière et sa bénédiction
m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études, Je te dédie ce
travail en témoignage de mon profond amour.**

**À Mon amour cher papa Abd el Rachid qui peut être fier et trouver ici le
résultat de longues années de privations pour m'aider à avancer dans la
vie. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon
éducation et ma formation.**

**À mes amoureux sœurs Rayen, Nada ...mes anges gardiens
et mes fidèles compagnants dans les moments les plus délicats de cette vie
mystérieuse.**

**À toutes et tous mes amis le secret de bonheur surtout Rayen et Nariman,
Maryem les meilleures collègues de mes années d'études...Ainsi que Manel et
Khadija mes merveilleuse amies d'enfance.**

À l'équipe de ma promotion d'année passée 2019-2020

Une dédicace spéciale À mon binôme Rayhana Merci beaucoup.

Djoumana

Résumé

Les bactéries sont très abondantes dans l'environnement et chaque jour le risque d'être contaminé augmente spécialement lorsque les concentrations de certaines espèces bactériennes deviennent anormalement élevées. Aussi la résistance de ces bactéries aux antibiotiques est devenue une véritable préoccupation. De ce fait, la recherche de nouveaux agents d'origines naturelles, présentant moins de danger pour la santé et palliant aux effets secondaires des antibiotiques, tels: « les huiles essentielles », est devenue une nécessité.

Dans la médecine traditionnelle, les plantes aromatiques constituent une source immense de molécules bioactives, dotées de nombreuses activités. Notre objectif est de démontrer l'efficacité antimicrobienne de *N.sativa* et leur biomolécules (thymol et thymoquinone) à partir des résultats des travaux déjà effectués sur différentes espèces bactériennes du Gram positive telle que *S.aureus* et de Gram négatif comme *E. coli*.

A partir des résultats de recherches cités dans ce travail, on peut proposer l'huile de *N.sativa* et leur biomolécules thymol et thymoquinone comme agents antimicrobiens puissants contre différentes pathologies.

Mots-clés : *Nigella sativa*, thymoquinone, thymol, activité antibactérienne, activités biologiques.

Abstract

Bacteria are very abundant in the environment and each day the risk of being contaminated increases especially when the concentrations of certain bacterial species become abnormally high. Also the resistance of these bacteria to antibiotics has become a real concern. As a result, the search for new agents of natural origin, presenting less danger to health and alleviating the side effects of antibiotics, such as "essential oils", has become a necessity.

In traditional medicine, aromatic plants constitute an immense source of bioactive molecules, endowed with numerous activities. Our objective is to show the antimicrobial efficacy of *N. sativa* and their biomolecules (thymol and thymoquinone) from the results of work already carried out on different bacterial species of Gram positive such as *S. aureus* and Gram negative such as *E. coli* and another bacterial.

From the research results cited in this work, we can propose *N. sativa* oil and their thymol and thymoquinone biomolecules as potent antimicrobial agents against various pathologies.

Keywords: *Nigella sativa*, thymoquinone, thymol, antibacterial activity, biological activities.

الملخص

تتواجد البكتيريا بكثرة في البيئة وكل يوم يزداد خطر التعرض للإصابات او الامراض البكتيرية خاصة عندما تصبح تركيزات بعض الأنواع البكتيرية عالية بشكل غير طبيعي. كما أصبحت مقاومة هذه البكتيريا للمضادات الحيوية مصدر قلق حقيقي. و نتيجة لذلك أصبح البحث عن جزيئات جديدة ذات أصل طبيعي أقل خطورة على الصحة وليس لها آثار جانبية كالمضادات الحيوية، مثل "الزيوت الأساسية" ضرورة حتمية.

في الطب التقليدي ، تشكل النباتات العطرية مصدرًا هائلاً للجزيئات النشطة بيولوجيًا ، والتي تتمتع بالعديد من الأنشطة. هدفنا من خلال هذه الدراسة النظرية هو إظهار الفعالية المضادة للميكروبات لحبة البركة وجزيئاتها الحيوية ثيمول و ثيموكينون و ذلك على اساس نتائج الاعمال التي تم إجراؤها بالفعل على أنواع من موجبة الجرام مثل ستافيلوكوكيس اوروز و سلبية الجرام مثل اشيريشيا كولي وعلى انواع بكتيرية اخرى.

تبعاً للنتائج الابحاث المذكورة في هذا العمل ،فانه يمكننا اقتراح زيت بذور حبة البركة و جزيئاته الحيوية ثيمول و ثيموكينون كمضاد حيوي فعال ضد مختلف الأمراض.

الكلمات المفتاحية: حبة البركة ، ثيموكينون ، ثيمول ، نشاط مضاد للجراثيم ، أنشطة بيولوجية.

Liste des abréviations

% : Pourcentage

µl : Microlitre

AGT : Acide gras trans

ALAT: Aspartate aminotransférases

AND : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARN_m : Acide ribonucléique messenger

ATP : Adenosine triphosphate

ATPase : Adenylpyrophosphatase

Bactéries à Gram⁻ : Bactéries à Gram négatifs

Bactéries à Gram⁺ : Bactéries à Gram positifs

CAT: Catalase

CD4 : Cluster de différenciation 4

CD8 : Cluster de différenciation 8

Cm : Centimètre

CMI : Concentration inhibitrice minimale

COX: Enzymes de la cyclooxygénase

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CPG-SM : Chromatographie en phase gazeuse - Spectrométrie de masse

CPK : Créatine PhosphoKinase

DL50 : Dose létale médiane

DPPH: Diphenylpicrylhydrazyl

DTQ : Dithymoquinone

E. Coli : *Escherichia coli*

g :Gramme

GC-MS: Gras chromatography-Mass spectroscopy

GPX: Glutathion peroxydase

GR: Glutathion réductase

GSH: Glutathion

GST: Glutathion S transférase

H⁺ Proton

H₁: Histamine 1
HDL: High density lipoprotein
HE: Huile essentielle
HPLC : Chromatographie liquide à haute performance
IFN- γ : Interférons
IL- : Interleukine
IL-1 β , IL-6, IL-10 : Interleukines
INF : Interféron
IZ : Zone d'inhibition
K⁺ : Ions de potassium
KDa: Kilo dalton
Kg: Kilogramme
LDH : Lactate Deshydrogénase
LDL : Lipoprotéine de basse densité
LO : Lipoxygénase
LT : Lymphocytes T
ml: Millilitre
Mm : Millimètre
N. sativa : *Nigella sativa*
NK : Natural killer (cellule tueuse)
NO: Monoxyde d'azote
P. aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*
P. vulgaris : *Proteus vulgaris*
PGD2 : Prostaglandine D2
PL : Phospholipide
RMN : Résonance magnétique nucléaire
S.aureus : *Staphylococcus aureus*
SOD: Superoxyde dismutase
THQ: Thymohydroquinone
THY: Thymol
TNF α : Facteur de nécrose tumorale alpha
TQ : Thymoquinone

Liste des figures

Figure 01 : A. Fleur / b. capsule /c. Graines de la plante N.sativa.....	07
Figure 02 : Structure chimique des alcaloïdes isolés des graines de N.Sativa.....	09
Figure 03 : structure des polyphénols de N.sativa.L	11
Figure 04 : Structure d'Isobenzofuranone et Hydroxyacétophénone.....	11
Figure 05 : Structure chimique de la thymoquinone	20
Figure 06 : Propriétés thérapeutiques de la thymoquinone	22
Figure 07 : Structure chimique de thymol	26
Figure 08 : Cellule procaryote	31
Figure 09 : Différentes formes des bactéries	32
Figure 10 : Structure bactérienne	33
Figure 11 : Structures de la paroi chez les bactéries Gram négatif et Gram positif	33
Figure 12 : Escherichia coli.....	35
Figure 13 : Staphylocoques aureus.....	36
Figure 14 : Courbe de la croissance bactérienne.....	37
Figure 15 : principales cibles cellulaires des antibiotiques.....	43
Figure 16 : Structure chimique des principes actifs de l'huile de N. sativa.....	44

Liste des tableaux

Tableau I : Composition en oligo-éléments des graines de N. sativa	08
Tableau II: Taux des lipides de l'huile fixe de N.sativa extraite par différentes Méthodes. ..	12
TableauIII: Principaux phospholipides d'huile fixe de N. sativa	12
Tableau IV : Propriétés physicochimiques de TQ	21
Tableau V: Propriétés physicochimiques du thymol.....	26
Tableau VI : Activité antibactérienne des huiles essentielles de N.sativa	45

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Table de matière

Introduction générale.....2

- Chapitre 01 -

1.Généralité..... 5

2.Description botanique 5

3.Classification..... 7

4.Composition générale de la graine de *N.sativa*..... 7

4.1.Protéines 7

4.2.Vitamines et sels minéraux 8

4.3.Lipides et stérols 8

4.4.Alcaloïdes 9

4.5.Triterpènes saponines 9

4.6.Composés phénoliques 10

4.6.1.Flavonoïdes 10

4.6.2.Isobenzofuranone et Hydroxyacétophénone 10

4.7.Huiles 11

4.7.1.Huile essentielle (huile volatile) 11

4.7.2.Huile végétale (huile fixe)..... 11

5.Effets pharmacologiques de *N.sativa*..... 12

5.1.Activité sur le système respiratoire 13

5.2.Activité sur le système cardio-vasculaire 13

5.3.Activité sur le système gastro-intestinal 13

5.4.Effets sur le système immunitaire 14

5.5.Effet sur le système nerveux 14

5.6.Activités antibactérienne et antifongique	14
5.7.Activité antioxydante.....	15
5.7.1.Activité antioxydante <i>in vivo</i>	15
5.7.2.Activité antioxydante <i>in vitro</i>	15
5.8.Activité antidiabétique.....	15
5.9.Activité anticancéreuse.....	16
5.10.Activité antiallergique	16
5.11.Effet anti-inflammatoire	17
6.Toxicité de <i>N.sativa</i>	17

- Chapitre 02 -

1.Thymoquinone (TQ)	20
1.1.Structure.....	20
1.2.Propriétés physicochimiques du TQ.....	21
1.3.Propriétés pharmacologiques de la thymoquinone	21
1.3.1.Activité antibactérienne	22
1.3.2.Activité anticancéreuse	22
1.3.3.Activité anti-inflammatoire.....	23
1.3.4.Activité antioxydante	23
1.3.5.Activité antidiabétique	24
1.4.Toxicité de la thymoquinone	24
2.Thymol (THY)	25
2.1.Structure.....	25
2.2.Propriétés physico-chimiques.....	26
2.3.Propriétés pharmacologiques de thymol.....	27
2.3.1.Activité antibactérienne	27
2.3.2.Activité anticancéreuse	27
2.3.3.Activité anti-inflammatoire.....	28
2.3.4.Activité antioxydante	28
2.3.5.Effet anti-hypertensive.....	28
2.4.Toxicité de thymol.....	29

- Chapitre 03 -

1. Généralité	30
2. Définition des bactéries	31
3. Structure des bactéries	32
3.1. Paroi.....	33
3.2. Membrane cytoplasmique.....	34
3.3. Capsules.....	34
3.4. Flagelles.....	34
3.5. Pili.....	34
3.5.1. Pili communs	34
3.5.2. Pili sexuels	35
4. Classification des bactéries	35
4.1. Bactéries à Gram négatif	35
4.2. Bactéries à Gram positif	36
5. Infections bactériennes	37
6. Croissance bactérienne	37
7. Définition de l'activité antibactérienne	38
8. Techniques d'évaluation des activités antibactérienne	38
8.1. Méthode de détermination de la concentration minimale inhibitrice	39
8.2. Méthodes de diffusion dans la gélose (méthode de puits).....	39
8.3. Méthode de dilution en milieu liquide.....	40
9. Résistance aux antibiotiques	40
9.1. Résistance naturelle	41
9.2. Résistance acquise	41
10. Antibiotiques	41
10.1. Définition des antibiotiques.....	41
10.2. Mode d'action des antibiotiques.....	42
11. Effet antibactérien (Aromathérapie)	43
11.1. Activité antibactérienne de thymoquinone	46
11.2. L'activité antibactérienne de thymol	46
Conclusion générale	49

Liste de références

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Depuis des siècles, l'homme est servi des plantes pour de multiples usages. Avec celles-ci, il a ainsi pu se nourrir, se chauffer, se loger ou encore se soigner. Ce qu'on appelle aujourd'hui médecine traditionnelle ou médecine populaire (Cowan, 1999).

Parmi ceux-ci, nous retrouvons la Nigelle (*Nigella sativa*) qui est utilisée depuis plus de 5 000 ans. Elle a eu une place spéciale en tant qu'herbe aromatique médicinale chez les arabes (Abdesselam, 2015). C'est principalement parce que dans la médecine islamique, N.Sativa a été mentionnée par le prophète Muhammad comme le remède à toutes les maladies sauf la mort. En outre, il est également mentionné dans la Bible et d'autres livres religieux, en particulier en ce qui concerne ses effets thérapeutiques (Abdul Majeed *et al.*, 2020).

Beaucoup de plantes contiennent dans leurs différents organes des milliers de substances actives, soit dans les feuilles, les graines et les fleurs ou dans les racines (Altouparlak *et al.*, 2005). Dans N.sativa généralement les molécules actives se trouvent dans ses graines et spécialement dans son huile qui furent employées dans le traitement d'infections, des troubles respiratoires, de la migraine et bien d'autres utilisations encore (Mazars, 2003) comme l'activité anti-inflammatoire, antioxydante, antidiabétique, anticancéreuse et antimicrobienne...etc (Lakhdar *et al.*, 2012).

Durant ces dernières années, certaines études soit *in vivo* ou *in vitro* ont mis en évidence un large spectre des propriétés thérapeutiques liées aux diverses molécules bioactives de huile de N.sativa et la thymoquinone, le constituant majeur (18%) de l'huile essentielle de la nigelle (Altouparlak *et al.*, 2005) aussi la présence de thymol et d'autres composés phénoliques (Gazengel *et al.*, 2013).

Le 20^{ème} siècle a été marqué par la découverte des médicaments capables d'éliminer les microorganismes responsables de dizaines de milliers de morts chaque année comme les bactéries (Lopez-Romero *et al.*, 2015) qui sont très abondantes dans l'environnement, dans les aliments et sur les êtres vivants. Le risque d'être contaminé augmente, lorsque les concentrations de certaines espèces bactériennes deviennent anormalement élevées.

Les agents antimicrobiens utilisés de nos jours sont généralement des dérivés de l'industrie chimique et leur large distribution et emploi, posent un autre problème, à savoir celui des effets néfastes sur l'environnement, la santé humaine et l'acquisition d'une résistance microbienne au cours du temps (Boulatika et Habis, 2012). Cependant, le développement et

l'acquisition de la résistance bactérienne envers les antibiotiques est devenu un sujet d'inquiétude et une préoccupation des scientifiques (Paloazzi *et al.*, 2015). Ainsi le développement de nouvelles molécules antimicrobiennes est devenu une haute priorité dans la recherche biomédicale.

La recherche actuelle s'oriente donc, vers l'exploitation des substances naturelles et parmi lesquelles figurent les huiles et les molécules bioactives qui occupent une place importante dans le monde (Boublenza, 2009).

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de cerner et dévoiler les effets pharmacologiques et plus précisément le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *Nigella sativa* et de leur constituants majeurs (thymol et thymoquinone) en se basant aux données des revues de littérature qui en déjà publiées sur cette plante médicinale, afin de déterminer une éventuelle utilisation de cette plante dans le future comme un remède plus puissant que les antibiotiques dérivés de l'industrie chimique.

CHAPITRE 01

NIGELLA SATIVA



1. Généralité

Nigella est un nom dérivé du latin *nigellus* qui signifie noir du fait de la couleur de ses graines (Abdesselam, 2015), elle communément connu sous le nom de graine noire ou de cumin noir. C'est une plante traditionnellement utilisée dans le sous-continent indien (Nadkarni, 1976), dans les pays arabes (Sayed, 1980) surtout dans la civilisation islamique (Orsi, 2005) et en Europe (Lautenbacher, 1997).

Cette plante médicinale a été largement utilisée depuis les temps anciens (Abdul Majeed *et al.*, 2020). Les chercheurs sont beaucoup plus intéressés à l'activité de l'huile de cette plante qui possède des classes importantes de composés bioactifs (Fabienne, 2004) avec un large spectre des propriétés médicinales (Kumar, 2012).

La plante est considérée comme médicament pour réduire les effets néfastes de l'arthrite, l'asthme, inflammation, les troubles hépatiques et gastriques, le diabète et les cancers (Rahmani *et al.*, 2014 ; Majdalawieh *et al.*, 2017), l'hypertension et le stress oxydative (Leong, Rais Mustafa, 2013), Épilepsies (Hosseinzadeh *et al.*, 2005), les ulcères (El-Dakhakhny *et al.*, 2000) et en dermatologie dans l'eczéma et l'acné (Cihan, 2012).

Elle est aussi utilisée comme diurétique et favorise les menstruations (AL-majed *et al.*, 2001). Aussi bien, cette plante est utilisée dans l'alimentation dans le thé et le café, en plus ses graines servent d'aromatisant, elles entrent dans la composition du pain et servent aussi d'agent de conservation (Cihan, 2012).

2. Description botanique

N. sativa est une plante annuelle herbacée, à tige dressée, côtelée, anguleuse et rameuse atteignant 30 à 60 cm de haut (Rabbani, 2011). Le système racinaire est une racine principale allongée et persistante, les feuilles sont divisées en lobes étroits, allongés, souvent un peu élargis à leur sommet. Elles sont multifides : les feuilles inférieures sont pétiolées et les supérieures sessiles (Moussaoui, 2013).

La floraison aura eu lieu pendant la période d'avril à juin (Orsi, 2005). Les fleurs sont petites, solitaires, terminales et très riches en nectar, à pétales blanchâtres et cinq sépales pétaloïdes (figure 01.a) avec une mesure de 20 à 35mm de diamètre (Moussaoui, 2013).

Ses fruits sont des follicules connus partiellement, sessiles et fréquemment renflés (figure 01.b) et sont récoltés avant la maturité complète pour conserver les graines à l'intérieur. Le fruit présente une capsule globuleuse, formée de 3 à 6 carpelles qui sont jusqu'à la base reliées entre eux (Moussaoui, 2013).

Chaque capsule contient plusieurs graines de forme de triangle (figure 01.c) qui sont blanches noircissent à maturité après exposées à l'air (Bonnier et Douin., 1993), ces graines sont ovoïdes de 2 à 3.5 mm présentent 3 à 4 angles avec une face supérieure finement granuleuse et réticulée (Ghedira, 2006 ; Abdeslam, 2015). La durée de la croissance totale de *N. Sativa* comprend généralement six moi (Abdul Majeed *et al.*, 2020).



(a)



(b)



(c)

Figure 01 : A. Fleur / b. capsule /c. Graines de la plante *N.sativa* (Sabira *et al.*, 2015).

3. Classification

Selon la classification botanique des Angiospermes basée sur les critères morphologiques, anatomiques et chimiques, *N.Sativa* fait partie de classification systématique suivante (Ghedira, 2010):

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

4. Composition générale de la graine de *N.sativa*

La première publication sur les recherches de la composition des graines de *N.Sativa* ont débutés par Greenish en 1880, qui mentionne la présence de :

4.1. Protéines

Les protéines (environ 20 %) de la graine de Nigelle sont composées de 17 acides aminés dont 8 sont des acides aminés essentiels. L'acide aminé majeur est l'acide glutamique (22,4%), suivi par l'arginine (9,18%), l'acide aspartique (10,05%) et de la leucine et la

glycine. Ces constituants majeurs représentent plus de 54% des acides aminés totaux. La protéine la plus étudiée jusqu'à maintenant est la lipase qui catalyse des réactions de Transestérification (Akova et Ustun, 2000 ; Tuter *et al.*,2003).

4.2. Vitamines et sels minéraux

L'étude qui a été faite en Egypte sur la composition en vitamines révèle la présence des vitamines A, B1, B2, B6, PP et de l'acide folique (Nergiz et Ötles, 2003). Ramadan et Mörsel en 2002 ont analysé les vitamines liposolubles (A, D, E, K) des graines de *N.sativa* et ont pu identifier toutes les Classes des tocophérols dans l'huile. Les tocophérols totaux constituent 0,05% de l'huile. Ces Mêmes chercheurs ont également identifié d'autres vitamines liposolubles ; la vitamine A (β -carotène (0,05%)) et la vitamine K1 (0,1%) (Ramadan et Mörsel, 2002).

Des travaux sur la composition minérale de la graine de *N.sativa* ont rapporté que sa teneur en potassium est importante (1,18 % du poids total de la graine), la présence du calcium, du fer, du sodium du phosphore, du zinc, du cuivre et du sélénium a été prouvée (Takruri et Dameh, 1998 ; Nergiz et Otles, 2003 ; Al-Saleh *et al.*, 2006). Il est dommage que le magnésium n'ait pas été évalué, aussi l'absence de métaux lourds (cadmium, plomb et arsenic) dans les graines de *N.sativa* est confirmée dans une autre étude (Al-jishi ,2003). La composition en minéraux figure sur le tableau 01 :

Tableau I : Composition en oligo-éléments des graines de *N. Sativa* (Sultan, 2009)

Minéraux valeur nutritive pour	100g
Potassium	808 mg
Calcium	570 mg
Phosphore	543 mg
Magnésium	265 mg
Sodium	17,6 mg
Fer	9,70 mg

4.3. Lipides et stérols

Les Lipides des graines de *N. Sativa* renferment environ 0,4-2,5% d'huile essentielle, plus de 30% d'huiles fixes (Dominiczak *et al.*, 1991 ; Hashim,1982) et 38% de lipides totaux dont les phospholipides (Martin *et al.*,2001). Les acides oléique et linoléique sont les deux acides gras majeurs de l'huile de *N. Sativa*, ils constituent 75% des acides gras totaux (Abdel-all et

Attia, 1993). Les stérols représentent environ 2% de l'huile fixée, et la plupart sont retrouvés sous forme estérifiée et libre. Le stérol majeur, le B-sitostérol représente à lui seul environ 60% des stérols, puis arrive le stigmastérol à environ 20%. On peut rencontrer le cholestérol à l'état de traces, c'est-à-dire environ 1% (Cheikh-rouhou *et al.*, 2008 ; Hamrouni-Sellami *et al.*, 2008).

4.4. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances contenant de l'azote, le plus souvent inclus dans un hétérocycle. Ils présentent des caractères basiques et organiques d'origine naturelle et une structure complexe (figure 02). Dans les graines de *N. Sativa* 12 alcaloïdes ont été retrouvés :

- Nigellicine et nigellidine, ayant un noyau indazol (Atta *et al.*, 1985 ; Atta *et al.*, 1995).
- Isoquinone nigellimine et nigellimine-oxyde (Atta *et al.*, 1985 ; Atta *et al.*, 1992).
- Les alcaloïdes diterpènes Dollablane-types nigellamines A1, A2, B1, B2 (Morikawa *et al.*, 2004), A3, A4, A5, et C (Morikawa *et al.*, 2004b).

Ce qui est très intéressant dans la graine de *N. sativa*, c'est cette présence concomitante de 12 alcaloïdes de trois structures de base différentes. Ces alcaloïdes représentent une caractéristique rarement observée dans d'autres plantes. Les alcaloïdes sont responsables de la plupart des actions physiologiques et thérapeutiques à faibles doses. Ils deviennent cependant très toxiques à fortes doses (Orsi, 2005).

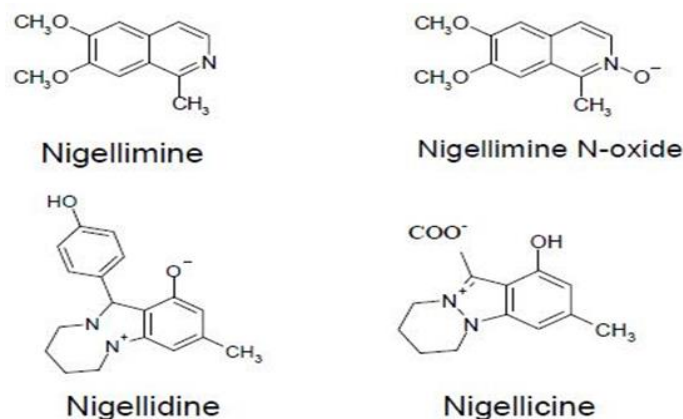


Figure 02: Structure chimique des alcaloïdes isolés des graines de *N. Sativa* (Orsi, 2005).

4.5. Triterpènes saponines

Les saponosides sont des hétérosides de stérols, ils libèrent par hydrolyse dans l'eau un ou plusieurs oses et une génine (sapogénine). En formant une solution moussante ce qui

explique leur propriété tensioactive. De nombreux saponosides ont pu être déterminés à partir de l'extrait éthanolique de la nigelle (Greenish., 1880).

A partir des graines de *N.sativa* une saponoside triterpénique douée de propriétés anti tumorales appelée l' α -hederine. L'extrait méthanolique de la Nigelle égyptienne, a menée à l'isolement de deux triterpènes saponines, appelés sativosides A et B, douées d'une activité anti-inflammatoire. (Bhupendra *et al.*, 2009).

4.6. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont formés d'une grande famille des substances organiques comprenant les flavones, les flavonols, les aurones, les chalcones et leurs hétérosides.

4.6.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés aromatiques dont la biosynthèse constitue l'un des processus fondamentaux de la phytochimie. Ils font partie de ce que l'on appelle les composés phénoliques. Les flavonoïdes sont des substances généralement colorés très répandus chez les végétaux, donc ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles (Merfort *et al.*, 1997).

En 2006, quatre constituants ont été isolés et identifiés structuralement par HPLC et RMN: la thymoquinone (TQ), le dithymoquinone, le thymohydroquinone et le thymol, la structure de ces 04 molécules est présentée dans la figure 03 (Gilani *et al.*, 2004 ; Ghedira, 2006).

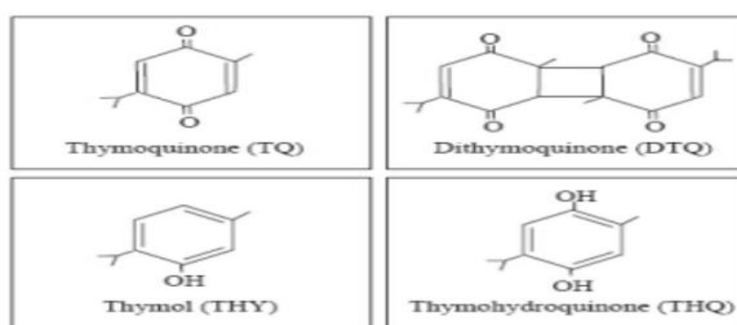


Figure 03 : structure des polyphénols de *N.sativa*.L (Salem, 2005)

4.6.2. Isobenzofuranone et Hydroxyacétophénone

En 2001, ils ont trouvés un nouveau composé appartenant aux Isobenzofuranone à partir d'une solution basique de graines dégraissées de *N. Sativa* L. Indiennes (Joshi *et al.*, 2001).

Une nouvelle para-Hydroxyacétophénone (figure 04) qui a été isolée à partir de graines de *N.sativa* (Dawidar *et al.*, 2001).

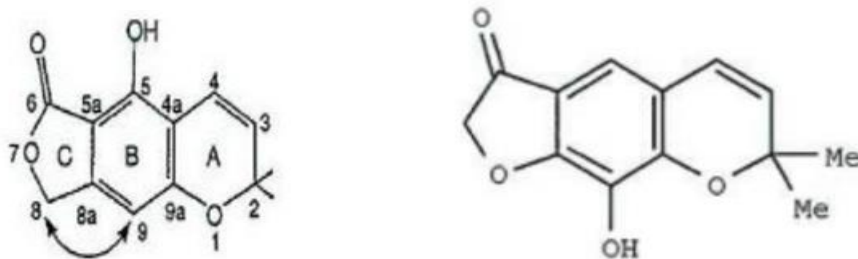


Figure 04 : structure de Isobenzofuranone et Hydroxyacétophénone (Joshi *et al.*, 2001).

4.7. Huiles

Les graines de *N.sativa* renferment environ de 0,4–2,5% d'huile essentielle (Hashim *et al.*, 1982 ; Dominic *et al.*, 1991), plus de 30% d'huiles fixes et 38% de lipides totaux (Martin *et al.*, 2001).

4.7.1. Huile essentielle (huile volatile)

Les huiles essentielles sont des substances naturelles volatiles. Elles sont responsables de l'odeur distinctive de la plante (Bakkali *et al.*, 2008). C'est pour cette raison que les plantes qui synthétisent les huiles essentielles sont connues sous le nom de « plantes aromatiques » (Bakkali *et al.*, 2008 ; Bruneton *et al.*, 1999).

L'analyse de cette huile par GC-MS réalisée par Burits et Bucaren 2000 a permis d'identifier 32 composants, dont la majorité d'entre eux sont des monoterpènes ; la thymoquinone (27,8%-57%), p-cymène (7,07-15,83%), carvacrol (5,8-11,6%), longifolène (1,2-8%), 4-terpinol (1,98-6,59%), et le tanethol (0,25-4,28%) (Burits et Bucaren ,2000).

La particularité de l'huile de *N.sativa* est la présence de quinones : thymoquinone et thymohydroquinone et d'un composé phénolique : thymol. Ces quinones sont les composés actifs de l'huile qui lui confèrent ses propriétés pharmacologiques (Orsi, 2005).

4.7.2. Huile végétale (huile fixe)

Les huiles fixes représentent 37,9-39,2% du poids de la graine (Ramadan et Mörsel, 2002). Généralement les huiles fixes sont des sources d'énergies, cette huile est majoritairement composée de triglycérides (57,50%) et d'une grande proportion d'acides gras libres 8,3 à 14,2% (ceci à cause de la présence de lipase), comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau II: Taux des lipides de l'huile fixe de *N. sativa* extraite par différentes Méthodes (Atta, 2003).

	Extraction par pression à Froid (%)	Extraction à chaud par Solvant apolaire (%)
Lipides polaires	03,70	04,80
Monoacyl –glycerol	04,80	05,70
Diacyl-glycerol	05,10	04,10
Stérols libres	03	05
Inconnu	05,40	04,50
Acides gras libres	14,20	08,30
Triacyl-glycerol	57,50	63,20
Stérols esters	02,50	04,40

L'analyse des phospholipides (PL) par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a permis d'identifier principalement sept constituants qui sont indiqués dans le tableau suivant (Ramadan et Mörsel., 2002 a) :

Tableau III: Principaux phospholipides de l'huile fixe de *N. sativa* (Ramadan et Mörsel, 2002).

Constituants phospholipidiques	% des phospholipidiques
Phosphatidyl choline	46
Phosphatidyléthanolamine	25
Phosphatidyl glycérol	1,51
Lysophosphatidyl choline	4,23
Lysophosphatidyléthanolamine	1,2
Phosphatidyl sérine	12
Phosphatidylinositol	9,56

5. Effets pharmacologiques de *N. sativa*

Durant les années 1960 et jusqu'à ce jour, de nombreux travaux ont porté sur l'étude des effets dus aux extraits de la graine (Toparslan, 2012). D'où plusieurs activités pharmacologiques ont été signalées :

5.1. Activité sur le système respiratoire

N.sativa est représenté comme une plante médicinale la plus recommandée pour le traitement des pathologies respiratoires grâce à ses propriétés antitussives et antiasthmatiques (Orsi, 2005). Les chercheurs avaient conclu que :

- Le Nigellone (poly thymoquinone) est un agent protecteur efficace contre l'asthme et la bronchite, en inhibant efficacement la libération de l'histamine (Gilani *et al.*, 2004 ; Gilani *et al.*, 2004).
- L'extrait aqueux est un relaxant pour la trachée isolée de cobaye par effet antihistaminique H₁ (Boskabady *et al.*, 2000).

Gilani et ses collaborateurs (2001) ont montré que l'extrait brut méthanolique des grains de *N.sativa* à un effet spasmolytique et broncho-dilatateur avec l'implication probable de bloqueurs des canaux calciques.

5.2. Activité sur le système cardio-vasculaire

Plusieurs travaux ont porté sur l'étude des effets de *N.sativa* sur l'activité cardio-vasculaire (Mahfoud *et al.*, 1962; Zaoui *et al.*, 2000 ; Enomoto *et al.*, 2001 ; Ramadan, 2007 ; Khattab et Nagi, 2007 ; Al-Naqeep *et al.*, 2011), leurs résultats ont fait ressortir que *N.sativa* possède des propriétés anti-hypertensives directes et protège le système cardiovasculaire par son effet hypolipémiant, anticoagulant et antiagrégant plaquettaire (Toparslan, 2012) et pouvaient aussi induire une baisse de la pression artérielle (Fallah *et al.*, 2013) et lutte contre l'athérosclérose et pourrait être utilisée dans la prévention d'accidents vasculaires (Toparslan, 2012).

La thymoquinone qui est le principe actif des huiles de *N.Sativa* permet de diminuer les niveaux de triglycérides, du LDL, et du cholestérol total (Bamosa *et al.*, 2002 ; Nader *et al.*, 2010 ; El-Dakhakhny *et al.*, 2000).

5.3. Activité sur le système gastro-intestinal

La Nigelle présente un effet contre les affections gastro-intestinales comme : les spasmes intestinaux lors de diarrhées ou parasitoses (Orsi, 2005). L'extrait des graines réduit de 36% l'indice d'ulcère induit par l'acide acétylsalicylique (aspirine) et diminue l'activité peptique (Ghedira, 2006). Une autre étude a montré les effets de la thymoquinone dans la colite induite

par l'acide acétique chez le rat (Mahgoub, 2003) et un effet protecteur *vis-à-vis* des lésions de la muqueuse gastrique (Toparlan, 2012).

5.4. Effets sur le système immunitaire

La poudre de *N.sativa* a entraîné une augmentation de la population lymphocytaire T helper (CD4_H) et a contribué à l'amélioration du rapport cellules T helper/cellules T suppresses (CD4_H/CD8). Par ailleurs, *N.sativa* augmente de 30% l'activité des cellules tueuses NK (El-Kadi et Kandil, 1987) et la libération des interleukines (Haq *et al.*, 1995), aussi elle augmente la production de cytokine (TNF- α) et de l'interférent γ (Haq *et al.*, 1999) et la prolifération des macrophages (Salem et Hussain, 2000), cela entraîne une stimulation de l'activité phagocytaire des leucocytes polynucléaires (Haq *et al.*, 1995).

Des chercheurs trouvent que l'administration de l'huile essentielle de *N.sativa* diminue donc la réponse humorale et au contraire elle stimule la réponse cellulaire (Islam *et al.*, 2004).

5.5. Effet sur le système nerveux

De nombreuses études menées sur différents modèles d'animaux ont déterminé l'action de *N.sativa* sur le système nerveux. Elles ont ainsi mis en évidence des propriétés neuroprotectrices, sédatives, anticonvulsivantes, anxiolytiques et antiépileptiques (Nobrega et Agra, 2011 ; Gilhotra et Dhingra, 2011).

Les extraits aqueux, méthanolique et l'huile de *N. Sativa* ont montré un effet dépresseur sur système nerveux central (SNC) et un effet analgésique central (AL-Naggar *et al.*, 2003), ainsi une action sur les crises d'épilepsie infantiles réfractaires (Akhodian *et al.*, 2007). Le principal agent responsable de cet effet sur le SNC est la Thymoquinone qui a montré son action anticonvulsivante intéressante (Orsi, 2005).

Une autre équipe s'intéressant à l'activité anticonvulsivante de l'huile essentielle de *N. Sativa* a démontré que la thymoquinone n'est pas le seul constituant responsable de cet effet, le carvacrol, la carvone, le t-anéthol et d'autres constituants présents en plus petite quantité comme le linalol, seraient aussi impliqués (Nobrega et Agra, 2011).

5.6. Activités antibactérienne et antifongique

L'huile essentielle de *N.sativa*, spécialement les composés phénoliques, sont responsables à l'inhibition de la croissance des bactéries Gram positif et négatif (Khan, 1999).

L'huile fixe présente également une excellente activité antifongique, notamment sur *aspergillus Niger* (Agrawal *et al.*, 1979). Par ailleurs, l'extrait de l'éther et la thymoquinone exercent une activité inhibitrice sur 8 espèces de dermatophytes (Aljabre *et al.*, 2005).

5.7. Activité antioxydante

Plusieurs travaux ont été réalisés *in vitro* et *in vivo* sur l'activité antioxydante des graines de nigelle et de ses différents constituants (Toparslan, 2012).

5.7.1. Activité antioxydante *in vivo*

L'huile essentielle et la thymoquinone exercent des effets antioxydants protecteurs contre les lésions induites par l'ischémie/reperfusion (Al-Majed *et al.*, 2006 ; Ilhan et Seçkin, 2005) et contre les dommages oxydatifs induits par une variété d'agents générant des radicaux libres (Nagi *et al.*, 1999). Une étude montre que l'huile de nigelle augmente la concentration en glutathion et le système de défense antioxydant au niveau du cortex rénal, ce qui implique une protection contre la néphrotoxicité (Salem, 2005).

5.7.2. Activité antioxydante *in vitro*

L'huile essentielle de *N. Sativa* et ses composés (thymoquinone, carvacrol et trans-anéthol) ont un grand pouvoir de réduction du radical DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), et d'inhiber la peroxydation lipidique et la dégradation de déoxyribose par le radical hydroxyle (Burits et Bucar, 2000). L'extrait méthanolique et ses fractions (hexane, acétate d'éthyle, et la fraction aqueuse) ont montré aussi un pouvoir antioxydant considérable *vis-à-vis* du DPPH, et dans le système de β -carotène/acide linoléique (Mariod *et al.*, 2009).

D'autre part, il a été établi que l'huile fixe brute et ses fractions chromatographiques (Phospholipides, glycolipides et lipides neutres) sont capables de piéger les radicaux libres DPPH et galvinoxyl dans un ordre décroissant respectivement (Ramadan *et al.*, 2003).

5.8. Activité antidiabétique

Le diabète fait partie des maladies chroniques qui se caractérisent par un taux de glycémie trop élevé dans le sang. En 1993, Al-hader et ses collaborateurs ont réussi à monter l'effet hypoglycémiant de l'huile essentielle de *N. sativa* qui est caractérisée par une augmentation de niveau d'insuline dans le sang (Eskander *et al.*, 1995) et une diminution de la glycémie (El-mahmoudy *et al.*, 2005 ; Fararh *et al.*, 2005). D'autre part l'extrait aqueux de la Nigelle a

permis une inhibition de l'absorption intestinale du glucose par l'inhibition d'une manière dose dépendante des transporteurs sodium-dépendant du glucose (Mzddah *et al.*, 2009).

En 2013, Shabana a été montré que *N.sativa* agit sur le diabète en diminuant le stress oxydatif (Shabana *et al.*, 2013) par la thymoquinone qui inhibe la synthèse de monoxyde d'azote (NO), à l'origine de la nécrose des cellules β de Langerhans et qui inhibe aussi la glucogénogénèse hépatique (El-mahmoudy *et al.*, 2005 ;Fararh *et al.*,2005).

5.9. Activité anticancéreuse

Le cancer reste une cause majeure de mortalité dans le monde. Chaque type des cancers nécessite un traitement précis incluant une ou plusieurs modalités. Les produits naturels ont été considérés comme une source précieuse pour la découverte de médicaments anticancéreux. *N.sativa* est l'une des plantes médicinales qui présente des propriétés anticancéreuses (Majdalawieh, 2016).

L'extrait décocté des graines de *N.sativa* exerce une forte activité cytotoxique sur les cellules hépatiques cancéreuses, notamment sur la synthèse d'ADN (Thabrew *et al.*,2005). D'autre part, l'huile essentielle de *N.sativa* est capable d'inhiber la carcinogénèse sans effets secondaires, cette inhibition est associée à la suppression de la prolifération cellulaire dans la muqueuse du colon (Salim et Fukushima, 2003).

In vitro, la thymoquinone et la dithymoquinone sont très cytotoxiques contre différentes lignées de cellules tumorales humaines car ils provoquent l'apoptose en bloquant le cycle cellulaire en phase G1 et en inhibant la protéine anti-apoptique (Salem, 2005).

5.10. Activité antiallergique

Des études *in vitro* ont démontré l'effet relaxant et anti-histaminique de l'extrait aqueux de *N. Sativa* (Ali, 2002 ; iboskabady, 2004). Il a été admis que les différents constituants actifs de l'huile essentielle (HE) de cette plante n'ont pas la même action sur la libération d'histamine. Le constituant actif de HE de nigelle est la nigellone qui peut inhiber à faible concentration la libération d'histamine par des mastocytes péritonéaux, en effet elle inhibe leur dégranulation par l'inhibition de la protéine kinase C et en facilitant le transport extracellulaire des ions calciques (Chakravarty ,1993; Salemm ,2005). Elle a aussi inhibé les effets vasopresseurs de la molécule ainsi que de la sérotonine sur les muscles lisses trachéaux et de l'iléon (Chakravarty ,1993 ; Meziti *et al.*, 2009).

D'autre part, la plupart des sujets qui ont été traités par l'huile de *N. Sativa* ont montré une augmentation de 55% des cellules CD4 et CD8 et 30% des cellules naturel killer (NK). *N.sativa* a été traditionnellement utilisée dans le traitement des maladies allergiques (Chakravarty, 1993) et peut être utilisée en cas de diarrhée, d'asthme et d'hypertension (Salem ,2005).

5.11. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est une réaction immunitaire non spécifique en réponse à une blessure ou à une infection (Abdesselam, 2015). Plusieurs études montrent que l'huile essentielle de *N.sativa* et précisément la thymoquinone exercent un effet anti-inflammatoire très important par trois types de mécanismes dont : l'inhibition de la production d'eicosanoides, l'inhibition de la synthèse de prostaglandines et la diminution de la production de monoxyde d'azote (Toparslan, 2012).

L'huile fixe de *N.sativa* est un puissant inhibiteur du thromboxane B2 et des leucotriènes B4 par inhibition respective des cyclooxygénase et lipooxygénase (El-Dakhakhny *et al.*, 2002 ; Hajhashemi *et al.*,2004). Elle permet aussi l'inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 1 et 6 et également la transcription du facteur nucléaire KB (Shuid *et al.*, 2012).

Dans une autre étude, un extrait de *N. Sativa* réduit les réponses inflammatoires pulmonaires avec une diminution de la concentration d'infiltration des cellules de l'inflammation et de l'œdème alvéolaire (Hayat *et al.*, 2011).

6. Toxicité de *N.sativa*

La toxicité potentielle de l'huile végétale des graines de *N. Sativa* a été recherchée chez des souris et des rats par la détermination des valeurs de la DL₅₀ et par l'examen de possibles changements biochimiques, hématologiques et histologiques (Vahdati, 2005).

Plusieurs études confirment que la nigelle possède un index thérapeutique élevé et une excellente innocuité à des doses inférieures à 4g/kg/jour (Orsi, 2005), et que l'administration orale de *N. Sativa* ne cause ni toxicité, ni mortalité ,donc la toxicité de la Nigelle est pratiquement nulle en ce qui concerne la consommation des graines, de l'huile ou de l'extrait aqueux mais il faut prendre en considération la formation des lésions hépatiques (Khanna, 1993 ; Le *et al.*, 2004 ; Zaoui *et al.*, 2002).

Une étude plus récente a trouvé que l'effet toxique de l'huile végétale de *N. Sativa*, c'est de provoqué des modifications au niveau des structures histologiques du cortex rénal et à moindre degré au niveau des cellules hépatiques, des changements sur Le poids des animaux qui est légèrement diminué (Zaghlol ,2012), mais l'absence total de aucune type de mortalité. Cette toxicité est due essentiellement à la présence de forte quantité de saponines et d'alcaloïdes dans les graines de Nigelle (Benzine, 2014).

Les valeurs de DL_{50} obtenues par une seule dose (toxicité aiguë) de l'huile végétale chez des souris étaient de 28,8 ml/kg par voie orale et de 2,06 ml/kg par voie intrapéritonéale (Vahdati,2005).

CHAPITRE 2
MOLECULES DE
***NIGELLA SATIVA* :**
THYMOQUINONE (TQ)
ET THYMOL (THY)

1.Thymoquinone (TQ)

La thymoquinone (TQ) est isolé pour la première fois à partir des graines de *N. sativa* en 1963 par El-Dakhakhny par biais de chromatographie en couches minces (CCM) (El-Dakhakhny , 1963), mais il se retrouve également dans d'autres plantes comme *Eupatorium ayapana* (Trang *et al.*, 1993), les huiles essentielles de bois de cœur de *Calo cedrusdecurrens* (Manter *et al.*, 2007), et l'huile de différents espèces de *Satureja* (Gohari *et al.*, 2012), ainsi dans les parties à floraison aérienne de *Thymus vulgaris L* (Grosso *et al.*, 2010) .

1.1. Structure

- La TQ est un monoterpène oxygéné (figure 05), contient un noyau quinone attaché à des chaînes latérales isopropyl et méthyl (2-isopropyl-5méthyl-1,4-benzoquinone) (Darakhshan *et al.*, 2015).
- Il est composé de 10 atomes de carbone et contient deux doubles liaisons (C == C) et deux doubles liaisons (C == O) (Alwadei *et al.*, 2019).
- Il a une structure basique de quinone ayant une dione para-substituée et de Nepeta distans (Darakhshan *et al.*, 2015).
- La TQ se présente sous forme dedeux formes tautomère différentes céto et énol (Darakhshan *et al.*,2015) ; Ceto est une forme active et principalement responsable des activités pharmacologiques du médicament (Poonam *et al.*, 2018).
- Chimiquement, La TQ pourrait être synthétisée par oxydation du thymol avec du peroxyde d'hydrogène (Alkharfy *et al.*, 2011 ;Schneider, 2014).
- Sa polymérisation permet d'obtenir la nigellone. Cette dernière retient la plupart des propriétés pharmacologiques de la thymoquinone et présente l'avantage d'être moins toxique (Mahfouz *et al.*, 1960).

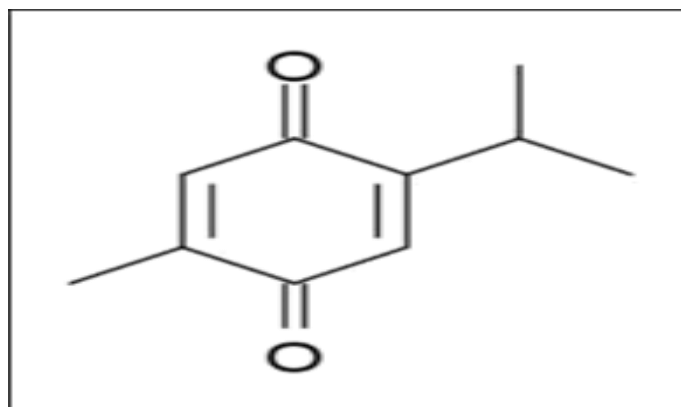


Figure 05 : Structure chimique de la thymoquinone (Poonam *et al.*, 2018).

1.2. Propriétés physicochimiques du TQ

Les propriétés physicochimiques du TQ sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau IV: Propriétés physicochimiques de TQ (Poonam *et al.*, 2018).

Nom IUPAC	2-isopropyl-5-méthylbenzo-1, 4-quinone
Formule chimique	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
Formule moléculaire	164,20 g / mol
Apparence	une poudre cristalline jaune foncé
Point de fusion	45-47 °C

Il y'a plusieurs d'autres propriétés de TQ comme :

- la TQ est un composé liposoluble très actif (Benhaddou, 2009).
- la TQ donne une odeur intense caractéristique de poivre (Sicker *et al.*, 2019).
- La solubilité du TQ varie dans la plage de 549- 669 µg/mL dans toutes les solutions aqueuses (Ajaz *et al.*, 2018).
- La TQ est instable en milieu aqueux particulièrement à pH alcalin (Alobaedi *et al.*, 2017).
- La TQ possède une forte sensibilité à la lumière (Sicker *et al.*, 2019).
- La surface polaire topologique de TQ est 34,1 A2 (Alwadei *et al.*, 2019).
- La TQ ne peut être trouvée que dans un forme triclinique déterminée par rayons X à haute résolution diffraction sur poudre (Pagola *et al.*, 2004).

1.3. Propriétés pharmacologiques de la thymoquinone

N.Sativa est considérée comme la meilleure herbe miraculeuse. Cependant, il est maintenant bien documenté que la plupart des avantages thérapeutiques de cette plante sont principalement attribués aux constituants de la quinone, dont la TQ qui est le composant le plus abondant de leurs extraits (Filippo *et al.*, 2002 ; Abid, 2020).

Plus récemment, une grande attention a été accordée à cette quinone qui est pharmacologiquement active. La figure 06 démontre les propriétés les plus importantes de TQ :

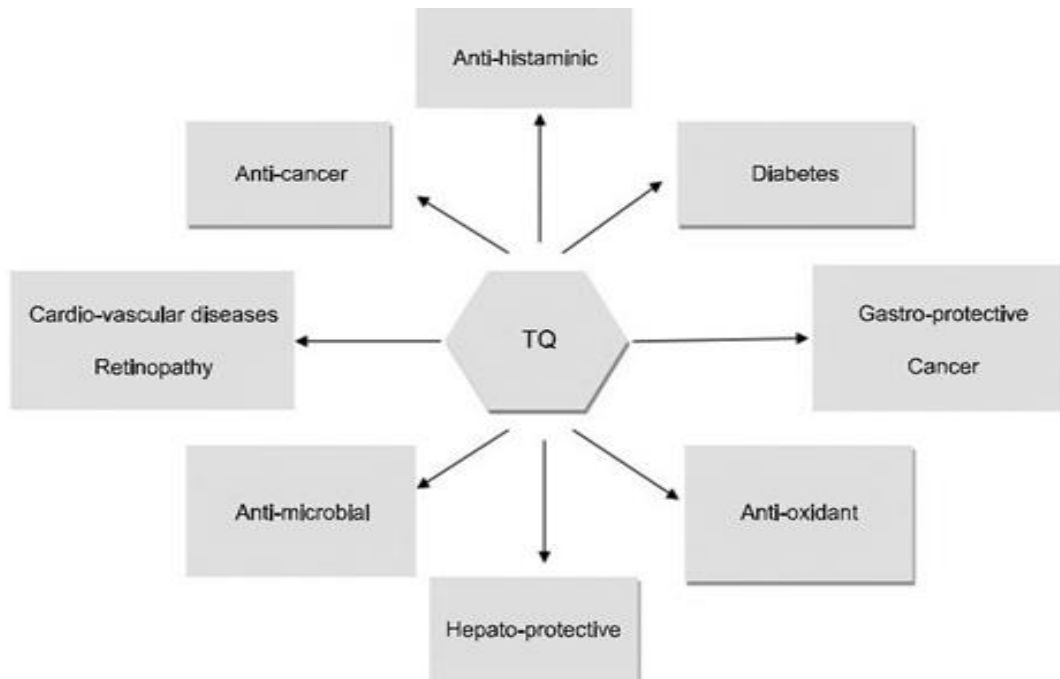


Figure 06 : Propriétés thérapeutiques de TQ (Poonam *et al.*, 2018).

1.3.1. Activité antibactérienne

La TQ possède un pouvoir inhibiteur contre un large éventail de bactéries. En se basant sur les résultats des études de différentes espèces bactériennes, les chercheurs concluent que cette dernière a un effet antibactérien sélectif et presque similaire à celui des antibiotiques testés contre les souches à Gram⁺ (Chaieb, 2011) qui montrent une sensibilité à la TQ mieux que les bactéries à Gram⁻ qui présentent une CMI très basse (Kalemba et Kunicka, 2003).

1.3.2. Activité anticancéreuse

Un nombre considérable d'études ont démontré que la TQ est un agent antinéoplasique et chimiopréventif puissant qui exerce une activité anticancéreuse remarquable, car elle inhibe la croissance et la prolifération des cellules cancéreuses. Cette action implique l'arrêt du cycle cellulaire ainsi que l'induction de l'apoptose de ces lignées cellulaires humaines telle que les cellules cancéreuses du côlon, du sein, du cerveau, du pancréas, du poumon, du foie, de la prostate, des ovaires et d'autres lignées cellulaires tumorales, aussi bien la TQ augmente les anticorps produits par les cellules B (Khan, 2003 ; Taha *et al.*, 2016).

Il apparaît que la TQ principalement agit sur les cellules cancéreuses dans différentes voies de signalisation moléculaires suivant plusieurs mécanismes : arrêt du cycle cellulaire au niveau de l'une ou plusieurs de ses phases, induction pro-apoptotique dépendante et indépendante de

p53, suppression de l'activation d'Akt, inhibition de la synthèse d'ADN, ou encore par interaction avec divers composés et voies de signalisation (Khan, 2003).

Il semble que la TQ est cytotoxique pour plusieurs types de cellules tumorales humaines alors que sa toxicité est minimale *vis-à-vis* des cellules normales (El-Najjar *et al.*, 2010 ; Zubair *et al.*, 2013). Aussi, elle protège différents organes des lésions induites par la chimiothérapie (Gali *et al.*, 2006b) et suggère un rôle possible dans l'amélioration de la qualité de vie des patients cancéreux (Attoub *et al.*, 2013).

1.3.3. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un processus biologique protecteur, peut être induit par des stimulants chimiques, biologiques et physiques. Les médiateurs inflammatoires tels que les oxydants, les eicosanoïdes, les chimiokines, les cytokines et les enzymes lytiques sont souvent sécrétés par les neutrophiles, les macrophages et les tissus endommagés (Dennis, 2015; Farkhondeh, 2015). En outre, la lipoxigénase (LO) et les enzymes de la cyclooxygénase (COX) sont les principaux facteurs qui jouent un rôle critique dans les réactions inflammatoires (Shaterzadeh, 2018).

Dans des études datant d'une vingtaine d'année, les résultats ont démontrés que la TQ exerce un effet anti-inflammatoire dose-dépendant, en inhibant la génération des eicosanoïdes (thromboxane B2 et leucotriène B4 (Houghton *et al.*, 1995) et en réduisant le taux de l' IFN- γ et des cytokines pro-inflammatoires TNF α , IL-1 β , et IL-6, en faveur de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 (Umar *et al.*, 2012) . D'autre part, la TQ empêche la formation de LT dans les cellules sanguines humaines (El Gazzar, 2006).

Par ailleurs, la TQ réduit significativement les taux d'IGE et d'IGG1 ainsi que l'expression du TGF- β 1 (transforming growth factor- β 1), elle réduit aussi l'inflammation allergique en inhibant l'expression de la cyclooxygénase 2 (COX-2) et la production de la prostaglandine D2 (PGD2) et les cytokines de type Th2 (IL-4, IL-5 et IL-13), et elle diminue l'accumulation des éosinophiles dans les voies respiratoires (Ammar *et al.*, 2011 ;Tekeoglu *et al.*, 2007). D'autre étude a rapporté que la TQ prévient l'élévation des taux de peroxydes lipidiques et améliore l'activité des enzymes antioxydantes (Umar *et al.*, 2015).

1.3.4. Activité antioxydante

L'utilisation de composés antioxydants naturels pour soigner les maladies liées au stress oxydatif a pris un essor considérable ces jours-ci. Ces agents antioxydants ont la capacité de

neutraliser les radicaux libres et de protéger l'organisme contre la pathogénèse induite par le stress oxydatif (Alenzi, 2013 ; Poonam, 2018).

Plus d'un tiers des articles de recherche et des brevets publiés sur la TQ au cours des dernières années ont démontré leur capacité de piéger l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) et l'oxygène moléculaire singulet (ROO^{\bullet}), et d'autres radicaux libres générés photochimiquement (Alenzi, 2013). Elle renforce aussi le statut antioxydant en induisant l'expression et/ou l'activité de la glutathion S transférase (GST), la glutathion peroxydase (GPX) (Elbarbry *et al.*, 2012), la Superoxyde dismutase (SOD) (Kanter *et al.*, 2005), la glutathion réductase (GR) (Elbarbry *et al.*, 2012) et la catalase (CAT), avec une augmentation des antioxydants moléculaires tels que le Glutathion (GSH) et les vitamines C et E (Sankaranarayanan, 2011). Ainsi elle active l'expression des gènes codant de GST, GPX et de CAT permettant de surmonter le stress oxydant (Ismail *et al.*, 2010).

D'autre part, la TQ est capable de protéger différents organes contre les lésions oxydatives induites par une variété de substances et médicaments générateurs de radicaux libres (Darakhshan *et al.*, 2015).

1.3.5. Activité antidiabétique

En plus des activités décrites ci-haut, la TQ détient des propriétés antidiabétiques (El-Mahmoudy *et al.* 2005) confirmées par des études qui ont été trouvées que la TQ provoque une diminution significative de la glycémie (glycémie à jeun, glycémie postprandiale), l'hémoglobine glyquée (HbA1c) et Le peptide-C sérique (El-Mahmoudy *et al.*, 2005 ; Bamosa, 2010).

En outre, la TQ préserve l'intégrité des cellules bêta en diminuant le stress oxydatif (Abdelmeguid *et al.*, 2010). Ainsi, la TQ peut être utilisée comme un adjuvant bénéfique chez les patients diabétiques de type II traités par les antidiabétiques oraux 1 (Bamosa, 2010).

1.4. Toxicité de la thymoquinone

Les propriétés toxiques de la thymoquinone ont été étudiées chez le rat et les souris par injection intrapéritonéale afin de déterminer leur DL_{50} (EL-Dakhakhny, 1965).

En 2008, une réévaluation des DL_{50} de la thymoquinone a été réalisée sur des souris et des rats. Chez la souris, la DL_{50} de TQ après administration par voie intrapéritonéale a été précisée de 104 mg/kg et de 870 mg/kg de poids corporel par voie orale. Ces valeurs ont été fixées de 57

mg/ kg et 794 mg/kg chez le rat après injection intrapéritonéale et administration par voie orale respectivement (Al-Ali, 2008).

Autre étude a mentionné que la marge thérapeutique de la TQ est large car l'homme peut tolérer à une dose journalière de 2600 mg (Al-Amri, 2009) mais à forte dose, la thymoquinone pourrait alors conduire à des effets indésirables tels qu'une hypoactivité et des difficultés respiratoires, des atteintes au niveau de certains tissus (foie, reins, cœur) ainsi qu'une diminution de taux de GSH. Les concentrations plasmatiques de l'urée, de la créatinine et les activités enzymatiques de l'ALAT, de la LDH et de la CPK sont significativement augmentées (Badary, 1998).

2. Thymol (THY)

Les métabolites secondaires sont des composés bioactifs naturels constitués des dérivés phénoliques de terpène tel que le thymol. Le thymol a été isolé pour la première fois en 1719 par Neumann à partir des plantes de *Thymus vulgaris* (Fan *et al.*, 2015; Nabavi *et al.*, 2015). Il est présent dans les huiles essentielles extraites à partir de plantes appartenant à la famille des *Lamiaceae*, comme celles des genres *Thymus*, *Ocimum*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* et *Monarda* (Licata *et al.*, 2015; Mancini *et al.*, 2015). Il est présent aussi dans d'autres espèces telles que *Nigella sativa*, *Lippia gracilis* Schauer, *Euphrasia rostkoviana* Hayne et *Trachyspermum ammi* (Moein *et al.*, 2015).

Aujourd'hui, le thymol et ses dérivés présentent un large éventail de possibilités fonctionnelles en pharmacie, industrie alimentaire, cosmétique et agriculture (Armutcu *et al.*, 2018).

2.1. Structure

- Le thymol est un monoterpène (figure 07) à fonction phénol (Jordan *et al.*, 1991; Lide et Frederikse, 1996).
- Il se caractérise par un groupement méthyle et un groupement isopropyle situés en para l'un de l'autre (Nieddu *et al.*, 2014).
- Le groupement isopropyle est en ortho de la fonction -OH. Il s'agit donc du 2-isopropyl-5-méthylphénol (Faucon, 2015).
- Le thymol a un isomère appelé le carvacrol (Trombetta *et al.*, 2005).
- Le Thymol est un dérivé naturel du cymène (Trombetta *et al.*, 2005), il est appelé aussi le p-cymène-3-ol ou encore 3-hydroxy-p-cymène (Nagle, *et al.*, 2013).

- Le thymol peut être synthétisé par conversion du gamma-terpinène en p-cymène (1, 2) (Nagle *et al.*,2013).

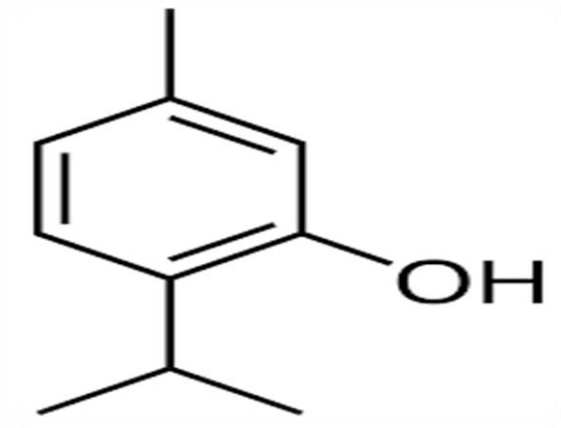


Figure 07: Structure chimique de thymol (Kachur, 2019).

2.2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physicochimiques du thymol sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau V: Propriétés physicochimiques du thymol (Marion, 2019)

Formule moléculaire	C ₁₀ H ₁₄ O
Poids moléculaire	150 g/mol
Point d'ébullition	233°C
Point de fusion	49,6° C
Densité	0,9699 g/cm ³ à 25°C
Constante de dissociation (pKa)	10,62
Solubilité à 25°C de 1g de thymol :	
Eau	1 litre
Alcool	1 millilitre
Chloroforme	0,7 millilitre
Ether	1,5 millilitre
Huile d'olive	1,7 millilitre

Il y'a plusieurs d'autres propriétés de Thymol comme :

- Le Thymol est connu par une faible appétence en raison de son goût et de son odeur désagréables (Nieddu *et al.* 2014).
- Le Thymol est un composé volatil lipophile (Nagle, 2013).
- Le Thymol est un composé organique aromatique avec une odeur aromatique caractéristique (Nagle, 2013 ; Marion ,2019).
- Il se présente sous forme de cristaux incolores (Marion, 2019).

2.3. Propriétés pharmacologiques de THY

Le thymol est utilisé depuis l'antiquité pour ses propriétés médicinales afin de traiter des maux de tête, toux, diarrhée, constipation, verrues (Simon *et al.*, 1990). Il montre aussi diverses activités biologiques, y compris l'activité antioxydante, anti- inflammatoire, antibactérienne, antidiabétique, anti- obésité, neuropharmacologique, anti-hyperglycémique, et aussi des effets bénéfiques sur le système cardiovasculaire (Islam, 2018).

2.3.1. Activité antibactérienne

Des travaux de recherches menées pour évaluer l'activité antibactérienne du thymol contre les bactéries à Gram⁺: *S.aureus* et contre les bactéries à Gram⁻ : *E.coli* et d'autres espèces cliniques. Les résultats ont montré que toutes les souches sont révélées sensibles au thymol mais les plus sensibles sont les bactéries à Gram⁺ telle que *S. aureus* (avec une zone d'inhibition (IZ) de 25 mm) par contre il a montré une activité plus faible contre les bactéries à gram⁻ telle que *E. coli* (avec IZ: 13 mm) (Mathela, 2010).

2.3.2. Activité anticancéreuse

Récemment, il a été découvert que le thymol exerce des effets anticancéreux et chimio préventifs grâce aux différents mécanismes d'action ; Comprenant l'inhibition de la croissance cellulaire, l'induction de l'apoptose, production des espèces oxygénées réactives intracellulaires, dépolarisation du potentiel de la membrane mitochondriale et par conséquent un dysfonctionnement de la mitochondrie (Kang *et al.*, 2016). Aussi bien, le thymol a causé des dommages et ségrégations cellulaires et des modulations de l'activité des lymphocytes T en réduisant la production d'IL-2 et d'IFN- γ (Llana, 2014 ; Islam, 2018).

2.3.3. Activité anti-inflammatoire

Il a été démontré que le thymol est responsable de l'action anti-inflammatoire la plus puissante (Mendes *et al.*, 2010) par l'inhibition de la libération des médiateurs inflammatoires tels que l'acide arachidonique, les neutrophiles, le COX et l'inhibition de la biosynthèse de prostaglandines, prostanoïdes, interleukines et leucotriènes (Mendes *et al.*, 2010 ; Braga *et al.*, 2006).

L'équipe de recherche de Wechsler a également révélé que le thymol favorise une apoptose induite par activation de la mort des mastocytes, ainsi il pourrait être utilisé par voie topique pour l'ablation de l'inflammation cutanée associée aux troubles des mastocytes (Wechsler *et al.*, 2014).

2.3.4. Activité antioxydante

Le stress oxydant provoque de nombreux dégâts dans les tissus, les organes, et peut même altérer l'ADN. Pour cette raison, l'organisme peut lutter contre les radicaux libres grâce à des systèmes de défense, constitués par des antioxydants issus de l'alimentation ou grâce à des enzymes capables de les neutraliser (Nostro, 2012).

L'huile essentielle à phénol est également un excellent antioxydant (Yu *et al.*, 2016), pour cette raison, le thymol peut devenir un aliment antioxydant important supplément (Sharifi *et al.*, 2018). Une étude comparative a révélé que le thymol a un pouvoir réducteur important, une activité de piégeage des radicaux DPPH, superoxyde et hydroxyle, et aussi une capacité à produire des espèces transitoires majeures appelées radicaux phénoxy. Il confère aussi une protection contre les dommages oxydatifs par l'augmentation de l'activité de plusieurs enzymes antioxydantes endogènes et contre les dommages lipidiques par l'inhibition de la peroxydation lipidique (Meeran *et al.*, 2015b; 2017).

2.3.5. Activité anti-hypertensive

Le thymol contenu dans l'huile essentielle de *N. sativa* a révélé un effet anti-hypertensif (Gilani, 2001). Cette dernière activité pourrait être expliquée par : une inhibition de la libération des ions calciques à partir du réticulum sarcoplasmique, une sensibilité réduite aux ions calciques du système de contraction, et/ou un blocage de l'influx d'ions calciques à travers la membrane (Peixoto, 2010). Chez l'homme, le thymol inhibe le courant Ca^{2+} , lorsque les canaux calciques sont bloqués, l'entrée du Ca^{2+} dans les muscles lisses vasculaires est réduite et cela mène éventuellement à une augmentation de la vasodilatation (Magyar, 2004).

2.4. Toxicité de thymol

Plusieurs études ont démontré que le thymol est toxique pour les cellules eucaryotes et procaryotes. Pour les cellules procaryotes, le thymol semble agir au niveau de la perméabilité des membranes cellulaires (Xu *et al.*, 2008). IL est toxique pour certaines cellules impliquées dans l'immunité chez différents organismes en déclenchant notamment l'apoptose dans les cellules dendritiques. Ainsi il affecte le système nerveux de différents organismes en se fixant sur différents récepteurs (Xuan *et al.*, 2010). De plus, à forte concentration, le thymol peut provoquer des problèmes de digestion et de diarrhée chez le cochon par un déséquilibre de la flore intestinale (Michiels *et al.*, 2010).

Le thymol est très irritant, son DL_{50} chez les rongeurs est de 243 mg/kg par voie cutanée (Arunasree, 2010), il provoque un peu de gastralgie avec nausées. Son intolérance se manifeste par des bourdonnements d'oreille, de l'hypothermie, des urines ou sang noires. De plus il induit des anomalies chromosomiques dans les cellules de la moelle osseuse (un risque génotoxique). Pour cette raison, il est nécessaire d'être prudent lors de son utilisation (Marion, 2019).

CHAPITRE 3

**BACTERIOLOGIE ET EFFET
ENTIBACTERIEN DE NIGELLA
SATIVA ET SES MOLECULES
(TQ ET THY)**



1. Généralité

Le microorganisme, appelé aussi microbe, fait partie d'un groupe large et extrêmement divers d'organismes vivants invisibles à l'œil nu (Bousseboua, 2002). Ces organismes sont regroupés sur la base d'une seule propriété ; ils sont très petits qu'ils ne peuvent être visualisés sans l'aide d'un microscope (Nicklin *et al.*, 2000). Les microorganismes regroupent les bactéries, les protozoaires, les champignons (appelés aussi mycètes) et les algues microscopiques. Ces microorganismes peuvent être la cause de nombreuses maladies végétales et animales et des contaminations alimentaires (Bousseboua, 2002).

Les microbes sont indispensables à la vie à cause de leurs nombreux rôles; ils sont nécessaires au cycle géochimique et à la fertilité de sols. Ils sont utilisés pour produire des aliments ainsi que des composants pharmaceutiques et industriels. Ils sont largement utilisés dans les laboratoires de recherche pour étudier les processus cellulaires et la découverte de nouvelles voies d'inhibition en utilisant de nouveaux médicaments et des antibiotiques à base des plantes (Billing et Sherman, 1998 ; Nicklin *et al.*,2000).

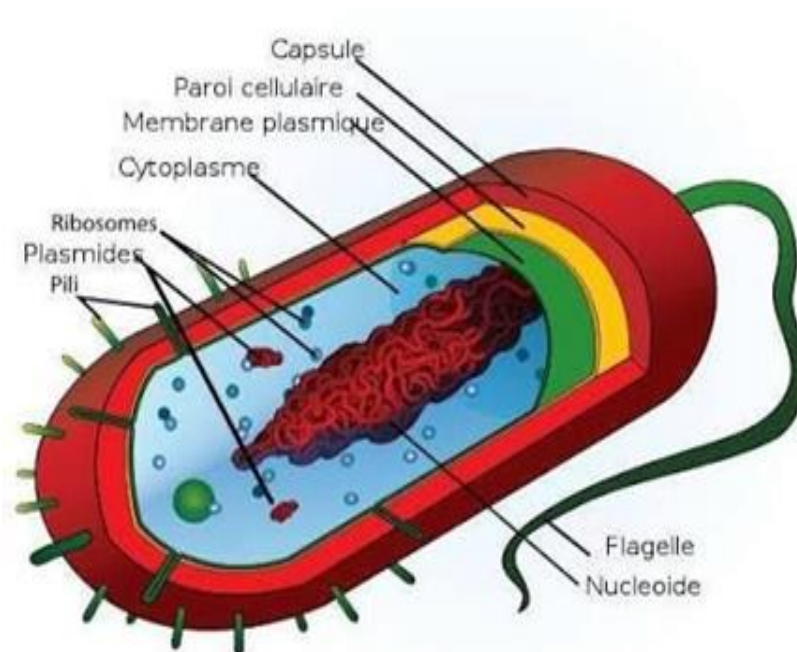


Figure 08: Cellule procaryote (Jaff et Wayne, 2008).

2. Définition des bactéries

Les bactéries sont parmi les plus anciens et les plus abondants êtres vivants sur terre. Ce sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes, visibles au microscope (Khaldi, 2018)

et dépourvus de Chlorophylle. Elles sont des éléments qui n'appartiennent ni au règne végétal, ni au règne animal et qui d'habitude trouvées en très grand nombre parce qu'elles peuvent se multiplier rapidement soit par la division simple (scissiparité) soit par la sporulation où la spore représentant la forme de résistance du germe (Marc *et al.*, 2001 ; Jaff et Wayne ,2008). Selon leur mode de nutrition et leur comportement *vis-à-vis* de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies (Ela et Elshaer, 1996).

Pour croître, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physicochimiques favorables (Marc *et al.*, 2001). La plupart des bactéries sont soit sphérique en forme de coque (Figure 09.a), comme *Staphylococcus aureus*, soit allongée en forme de bacille (Figure 09.b) comme *Escherichia coli*, il existe également des bactéries spiralées du genre *tréponème* (Figure 09. c) (Khaldi, 2018).

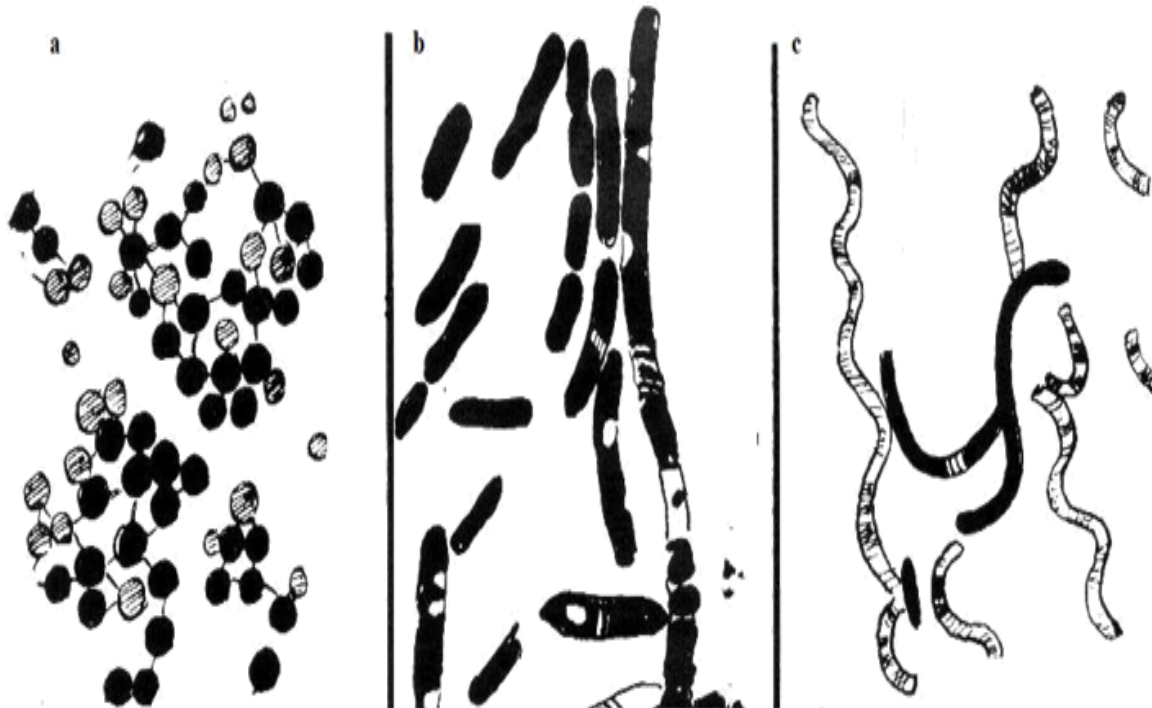


Figure 09 : Différentes formes des bactéries (Khaldi, 2018)

3. Structure des bactéries

Comme toute cellule, les bactéries contiennent une membrane plasmique doublée, d'une paroi et parfois d'une capsule. À l'intérieur de la cellule, se trouve le matériel génétique qui contient un seul chromosome bactérien circulaire. Certaines bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles ou des flagelles, comme indiqué dans la figure 10 (Marc *et al.*, 2001).

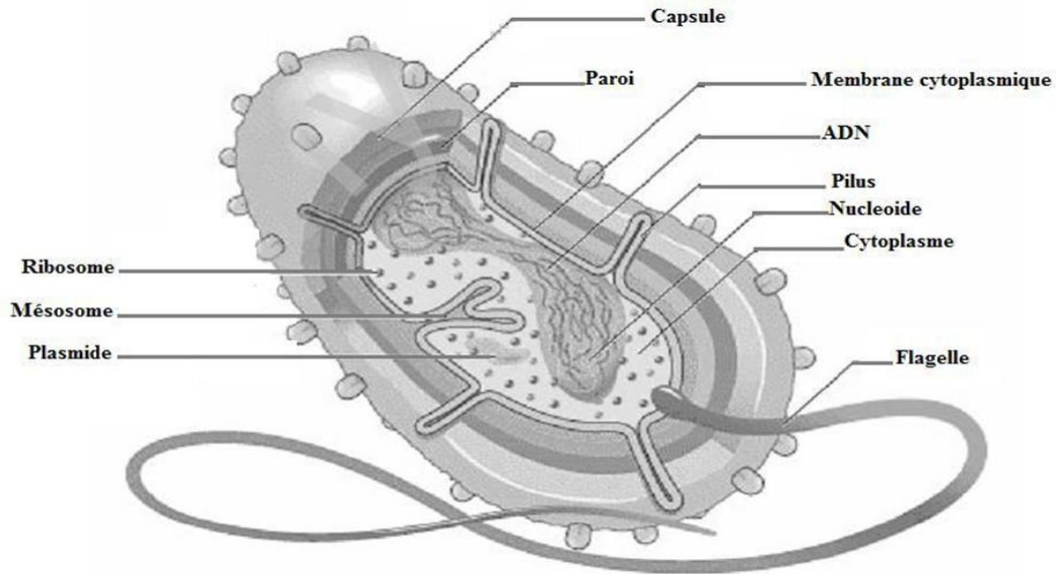


Figure 10: Structure bactérienne (Altoparlak *et al.*,2005 ; Livermore,2006 ; Lavigne *et al.*,2008)

3.1. Paroi

La paroi c'est une enveloppe rigide assurant l'intégrité de la bactérie et responsable de la forme des cellules, elle protège la bactérie contre les variations de pression osmotique (Maier *et al.*, 1999). La partie commune à toutes les parois bactériennes c'est le peptidoglycane (ou muréine) (Dorywalska *et al.*, 2005). La figure suivante exprimée la structure de la paroi bactérienne :

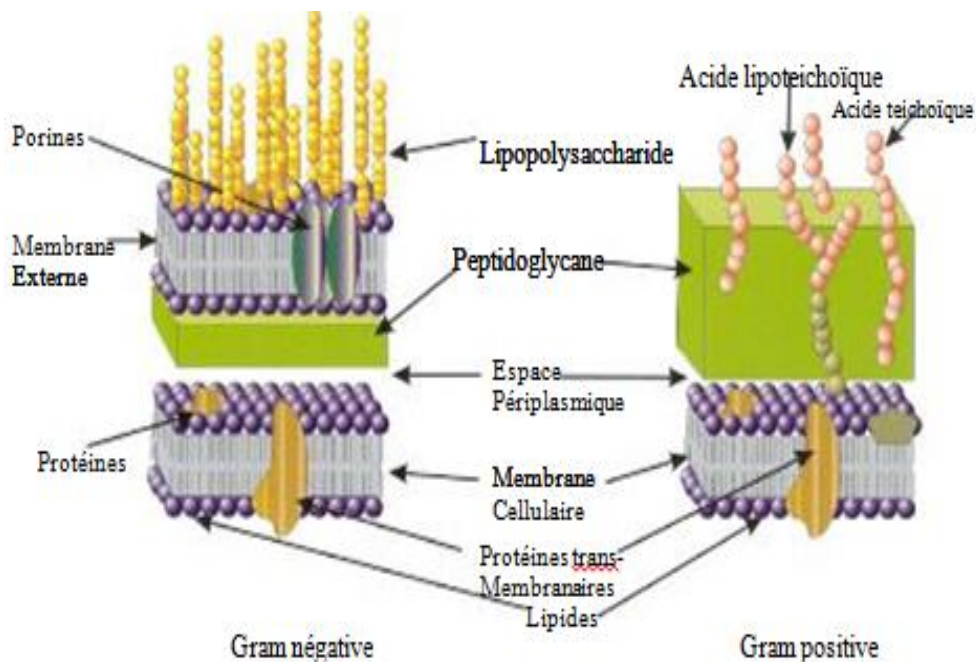


Figure 11: Structures de la paroi chez les bactéries Gram négatif et Gram positif (Maier *et al.*,1999).

3.2. Membrane cytoplasmique

C'est une structure interne à l'interface entre le cytoplasme et les structures externes. C'est une membrane trilamellaire dépourvu de stérols (différent des eucaryotes) formée d'une double couche de phospholipides dont les pôles hydrophobes sont face à face associés à des protéines (Anand *et al.*, 1960).

Certaines de ces protéines sont les perméases, ils ont un rôle important dans les échanges. D'autres ont un rôle dans la synthèse du peptidoglycane et les dernières protéines sont des enzymes respiratoires ou impliquées dans la production d'énergie (ATPase) (Warner *et al.*, 2014).

3.3. Capsules

Ce constituant inconstant est le plus superficiel, il est constitué de polysaccharides acides. Sa mise en évidence s'effectue par coloration négative. Ce composant est lié à certains pouvoirs pathogènes car il empêche la phagocytose. Il peut se trouver à l'état soluble dans les liquides de l'organisme et intervient dans l'identification infra-spécifique (Warner *et al.*, 2014).

3.4. Flagelles

Certaines bactéries sont mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles. Leur longueur est variable et peut atteindre jusqu'à dix fois le diamètre de la cellule bactérienne. Ils permettent à la bactérie de se déplacer vers des milieux où les conditions de croissance sont plus favorables (Proft *et al.*, 2009).

3.5. Pili

Les pili ou fimbriae sont des excroissances de la membrane de certains genres de bactéries, qui leur permettent de se mouvoir et d'adhérer à un substrat. Il existe deux types de pili (Proft *et al.*, 2009).

3.5.1. Pili communs

Ils peuvent attacher spécifiquement des bactéries à la surface de cellules eucaryotes, c'est une phase essentielle pour certain pouvoir pathogène (Proft *et al.*, 2009).

3.5.2. Pili sexuels

Ils sont plus longs et ont un rôle dans l'attachement des bactéries entre elles (conjugaison) et sont le récepteur de virus bactérien ou bactériophage spécifique (Proft *et al.*,2009).

4. Classification des bactéries

la classification de la coloration de Gram permet de diviser les bactéries en deux groupes, en se basant sur la différence de la structure et de la composition chimique de leur paroi (Maier *et al.*,1999 ; Bousseboua ,2002). On peut distinguer:

4.1. Bactéries à Gram négatif

Plus des deux tiers des espèces bactériennes répertoriées dans l'environnement sont à Gram négatif. C'est à dire qu'elles possèdent une paroi spécifiquement formée de deux éléments: une membrane externe surmontant une couche mince et peu dense de peptidoglycane (Bousseboua, 2002). Ces bactéries ont une structure beaucoup plus complexe que les bactéries à Gram positif car leur membrane est asymétrique dont la face extérieure est composée exclusivement de lipopolysaccharides dont la longueur de la chaîne glucidique varie en fonction des espèces bactériennes (Kamio et Nikaido, 1976). Exemple (figure 12): *Escherichia coli* (Khaldi, 2018).

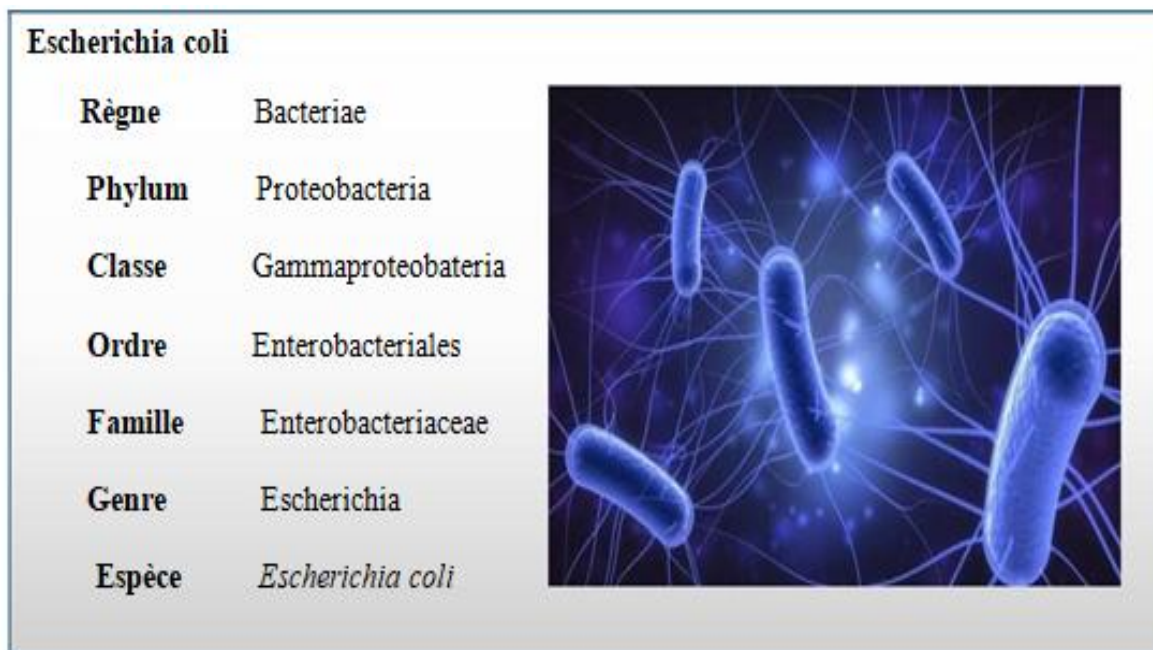


Figure 12 : *Escherichia coli* (Khaldi, 2018)

4.2. Bactéries à Gram positif

Elles sont bien moins nombreuses que les bactéries à Gram négatif et constituent également une catégorie morphologiquement, physiologiquement et écologiquement très variée (Bousseboua, 2002).

Les bactéries à Gram⁺ se caractérisent par la présence d'une paroi cellulaire entourant leur membrane cytoplasmique (Bousseboua, 2002). Elle se compose d'un seul élément formé d'une épaisse couche très solide de peptidoglycane (muréine) qui est le constituant majeur (90% des constituants de la paroi) et les acides lipoteichoïques (LT) qui retiennent le violet lors de la coloration de Gram (Colomban et Tournié, 2010). Ce type de bactérie ne comporte pas la membrane externe typiquement présente chez les bactéries à Gram⁻ (Bousseboua, 2002). Exemple (figure 13) : *Staphylococcus aureus* (Khaldi, 2018).

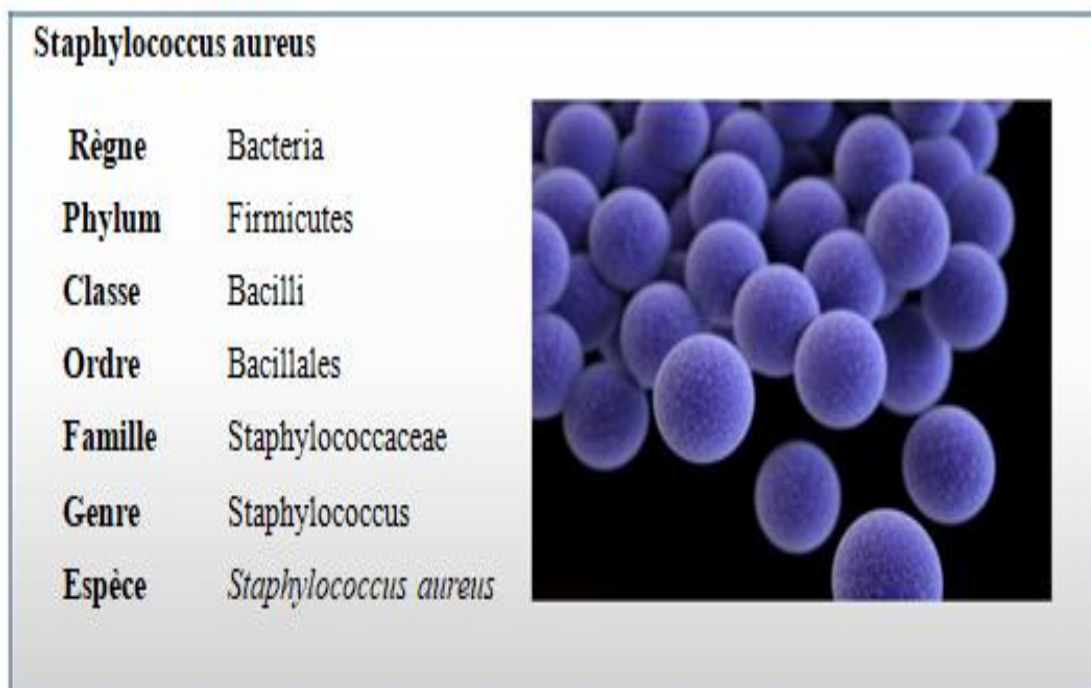


Figure 13 : *Staphylocoques aureus* (Khaldi, 2018).

Il existe des bactéries telles que les mycobactéries qui répondent très mal à la coloration de Gram, leur paroi est riche en lipides (environ 23% pour 2% chez les autres bactéries), elle forme une véritable enveloppe protectrice rendant difficile la pénétration des colorants (Khaldi, 2018).

5. Infections bactériennes

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux (Billing et Sherman, 1998). Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme (Pocidalò *et al.*, 1989 ; Marc *et al.*, 2001), elle peut être :

- Locale : lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré.
- Générale : lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme.
- focale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou les organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine. (Pocidalò *et al.*, 1989; Marc *et al.*, 2001).

Un très grand nombre d'infections bactériennes peuvent affecter l'être humain, en fonction du type de bactérie et la partie de l'organisme qui sera infectée. Certaines infections sont bénignes, d'autres au contraire peuvent être mortelles (Buisso, 2000).

6. Croissance bactérienne

La croissance chez les bactéries peut se traduire par une augmentation du volume de la Cellule bactérienne à cause de la multiplication cellulaire. Les bactéries se multiplient par fusion binaire d'une cellule avec un partage équivalent du matériel génétique. Ce qui donne la naissance à deux cellules filles identiques à la cellule mère. Au cours de la croissance, il se produit, d'une part, un appauvrissement du milieu de culture en nutriments et d'autre part, un enrichissement en sous-produits du métabolisme (Khaldi, 2018). Il existe cinq phases dans la courbe de croissance bactérienne (la Figure 14).

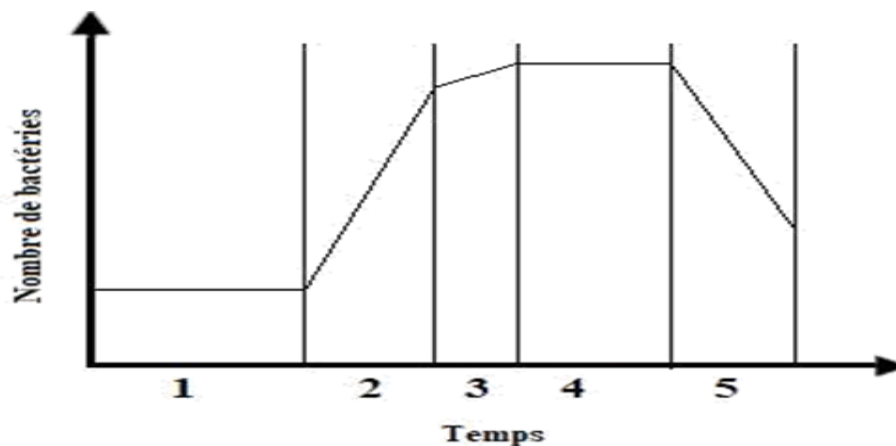


Figure 14 : Courbe de la croissance bactérienne (Khaldi, 2018).

- La Phase de latence (1) : C'est le temps nécessaire à la bactérie pour s'adapter au nouveau substrat. Durant cette phase, le taux de croissance est nul, la durée de cette phase dépend de l'âge des bactéries et de la composition de milieu.
- La Phase exponentielle de croissance (2) : dans cette phase le taux de croissance atteint son maximum. Elle dure tant que la vitesse de croissance est constante.
- Le début de la phase stationnaire (3) : Elle correspond au début de l'épuisement des nutriments du milieu et de l'accumulation des déchets. La vitesse de croissance est diminuée.
- La Phase stationnaire (4) : Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent, et synthétisent des protéines de manque qui rendent la cellule plus résistante aux dommages. Le taux de croissance devient nul.
- La Phase de déclin (5) : Les ressources nutritives sont épuisées et les métabolites toxiques s'accumulent donc le nombre d'organismes viables diminue, ça veut dire que le taux de croissance est négatif.

7. Définition de l'activité antibactérienne

Le terme "activité antimicrobienne" désigne toute activité d'une substance utilisée pour détruire les microorganismes ou empêcher leur croissance. Cette activité est basée sur les agents antimicrobiens qui sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections (Leclerc et Gaillard, 1995). Ces agents antibactériens appelés des antibiotiques, ils peuvent avoir une action létale sur les bactéries ; effet bactéricide ou une action inhibitrice sur la croissance bactérienne sans les tuer ; effet bactériostatique (Bousseboua, 2002).

La consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entraîné la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouveaux substituts, surtout d'origine végétale (extraits des plantes) qui ont toujours constitué une source d'inspiration dans la recherche médicale (Shtayeh *et al.*, 1998).

8. Techniques d'évaluation de l'activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée par trois techniques différentes et complémentaires (Rahal, 2011):

- Méthode de détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI).
- La technique de diffusion sur gélose dite méthode de diffusion sur disque (méthode de puits).
- Méthode de dilution en milieu liquide.

8.1. Méthode de détermination de la concentration minimale inhibitrice

L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) consiste à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme visible à l'œil nu (Bousseboua, 2002).

La CMI est déterminée par l'utilisation d'une gamme de dilutions de l'agent antimicrobien, additionnée à une série de tubes d'un milieu de culture liquide, de composition convenable. Après inoculation des espèces microbiennes étudiées et incubation dans les mêmes conditions, la CMI est indiquée par le tube de la dilution à partir de laquelle aucune croissance microbienne n'est constatée (Bousseboua, 2002).

L'activité antimicrobienne contre les microorganismes à analyser va être évaluée qualitativement et quantitativement en fonction de la présence ou l'absence de zone d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice par rapport à l'antibiotique de référence (Delarras, 1998).

8.2. Méthodes de diffusion dans la gélose (méthode de puits)

Cette méthode est aussi appelée méthode de l'aromatogramme, ou technique de l'antibioaromatogramme ou encore méthode de Vincent (Klancnik, 2010). C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien (Ela et coll, 1996).

La méthode de diffusion dans la gélose (agar) est basée sur la diffusion uniforme de l'huile au sein de la géloseensemencée (Klancnik, 2010). Elle est particulièrement adaptée à l'étude de l'action des antibiotiques sur la croissance des bactéries, elle permet de déterminer leurs antibiogrammes, qui rendent compte de la sensibilité spécifique des différentes espèces bactériennes *vis à vis* un antibiotique donné (Bousseboua, 2002).

Cette méthode consiste à utiliser des boîtes de pétries contenant un milieu gélose convenable, déjà solidifié de la souche microbienne testée. Des disques de papier-filtre,

préalablement imprégnés, des quantités connues d'antibiotiques, sont alors placés à la surface de la gélose. Durant la période d'incubation, l'antibiotique diffuse dans la gélose à partir des disques, selon un gradient de concentration jusqu'à une limite de distance où sa concentration est la plus faible. (Bousseboua, 2002).

Après incubation, on constate dans la boîte de pétri un développement bactérien normal dans la gélose, sauf autour des disques d'antibiotiques qui ont une action inhibitrice. Autour de ces disques, on observe une zone d'inhibition exempte de développement microbien, mais quand la concentration de l'antimicrobien est très diluée, il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, donc la zone d'inhibition est démarquée (Bousseboua, 2002).

Le diamètre de cette zone d'inhibition est corrélé avec la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la combinaison particulière bactérie/antimicrobien. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (Ela *et al.*, 1996).

8.3. Méthode de dilution en milieu liquide

Cette méthode est appelée aussi la méthode de Maruzella ou la dilution en bouillon (Maruzella, 1962). C'est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien par un contact direct avec le germe dans un milieu liquide. Le but de cette méthode est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (Daouda, 2015).

La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée selon le volume réactionnel dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (microdilution) (Mahboubi, 2010 ; Zhao, 2010).

9. Résistance aux antibiotiques

La résistance des bactéries aux antibiotiques est due à l'usage généralisé des antibiotiques et à la forte adaptabilité des souches bactériennes. En effet, toutes les cellules réagissent aux perturbations extérieures de manière à préserver les aspects fondamentaux de leurs identités (Daouda, 2015 ; Margulis, 1989). Cette résistance pose un grand problème dans le traitement de certaines maladies infectieuses, elles peuvent être naturelles ou acquises :

9.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle "ou intrinsèque" est découverte chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien (Andremont, 2005 ; Alkhatib *et al.*, 2014). L'expression d'un caractère inné partagé par l'ensemble de la communauté bactérienne rend inappropriée l'utilisation de certains antibiotiques. Des particularités structurales de la paroi cellulaire, empêchent les antibiotiques d'accéder à leur cible (Normak, 2002). C'est par exemple le cas de *E. coli vis-à-vis* de la vancomycine ou encore de *P. aeruginosa* face à l'ampicilline (Andremont , 2005).

9.2. Résistance acquise

La résistance acquise est plus préoccupant que la résistance naturelle car elle ne concerne que quelques souches d'une même espèce normalement sensible à un antibiotique (Goossen *et al.*, 2006 ; Von *et al.*, 2016). En effet, quand les bactéries sont soumises à des traitements antibiotiques, elles finissent par l'adaptation et le développement de résistance contre les médicaments auxquelles elles étaient auparavant sensibles (Dublanche, 2008).

Dans 10% des cas, cette résistance acquise est due à des modifications génétiques de la bactérie, alors que dans 90% des cas, cette résistance est due à l'acquisition de plasmides qui sont des molécules d'ADN qui se trouvent dans le cytoplasme des bactéries. Le transfert des plasmides se fait par conjugaison, par mobilisation ou par transformation. Exemple les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la vancomycine (SARV) (Noble *et al.*,1992 ; Alekshun, 2007 ; Daouda ,2015) ou *E.coli vis-à-vis* la pénicilline (Charlier,1998).

10. Antibiotiques

10.1. Définition des antibiotiques

Le terme « antibiotique » est utilisé pour parler des médicaments permettant le traitement des infections bactériennes (Wang, 2010). Ce sont des substances chimiques soit naturelles produites par des microorganismes (Miller, 2004), soit semi-synthétique ou synthétique produites aux laboratoires (Newman *et al.*, 2003; Singh et Barrett, 2006). Ces produits ont pour effet d'inhiber ou bloquer la multiplication des bactéries, on parle dans ce cas de « bactériostatiques», ou d'entraîner leurs destructions par action au niveau d'une ou plusieurs voies métaboliques indispensables à la vie de la bactérie «bactéricides» (Islam, 2008; Miller, 2004).

10.2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques et interférer avec les voies métaboliques de synthèse d'ADN, mais leurs cibles principales sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens. La structure de ces antibiotiques permet d'établir des interactions spécifiques avec leurs différentes cibles bactériennes (Daouda, 2015 ; Singh et Barrett, 2006) (figure 15) :

1. Inhibition de la synthèse de paroi : Les β -lactamines et les glycopeptides sont les deux classes majeures d'antibiotiques qui interfèrent avec la synthèse de la paroi bactérienne. L'action de ces antibiotiques conduit à des changements morphologiques et la formation incomplète de la paroi aboutissant à l'éclatement et la mort de la bactérie (Cherier, 2017).
2. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques (ADN et ARNm) : les antibiotiques responsables de l'inhibition de la réplication d'ADN sont les quinolones. Ces molécules forment un complexe (ADN-topoisomérase-quinolone) et provoquent un arrêt de la machinerie de réplication d'ADN et leur coupure (Drlica *et al.*, 2008).
3. Inhibition de la synthèse de protéine : les antibiotiques qui inhibent les étapes de la transcription et la synthèse des ARNm, font partie de la famille des rifamycines. Ces molécules sont responsables d'un arrêt de la transcription par liaison à l'ARN polymérase et aussi l'arrêt de la traduction par l'inhibition des ribosomes et blocage de la synthèse protéique (Lambert, 2012).
4. Destruction de la membrane cytoplasmique : les antibiotiques altèrent la membrane cytoplasmique et la dissocient, ce qui entraîne une fuite du cytoplasme (Duval *et al.*, 1985).

Cette spécificité des antibiotiques est associée à la capacité d'adaptation des bactéries et participé à la sélection de bactéries résistante aux antibiotiques (Singh et Barrett, 2006).

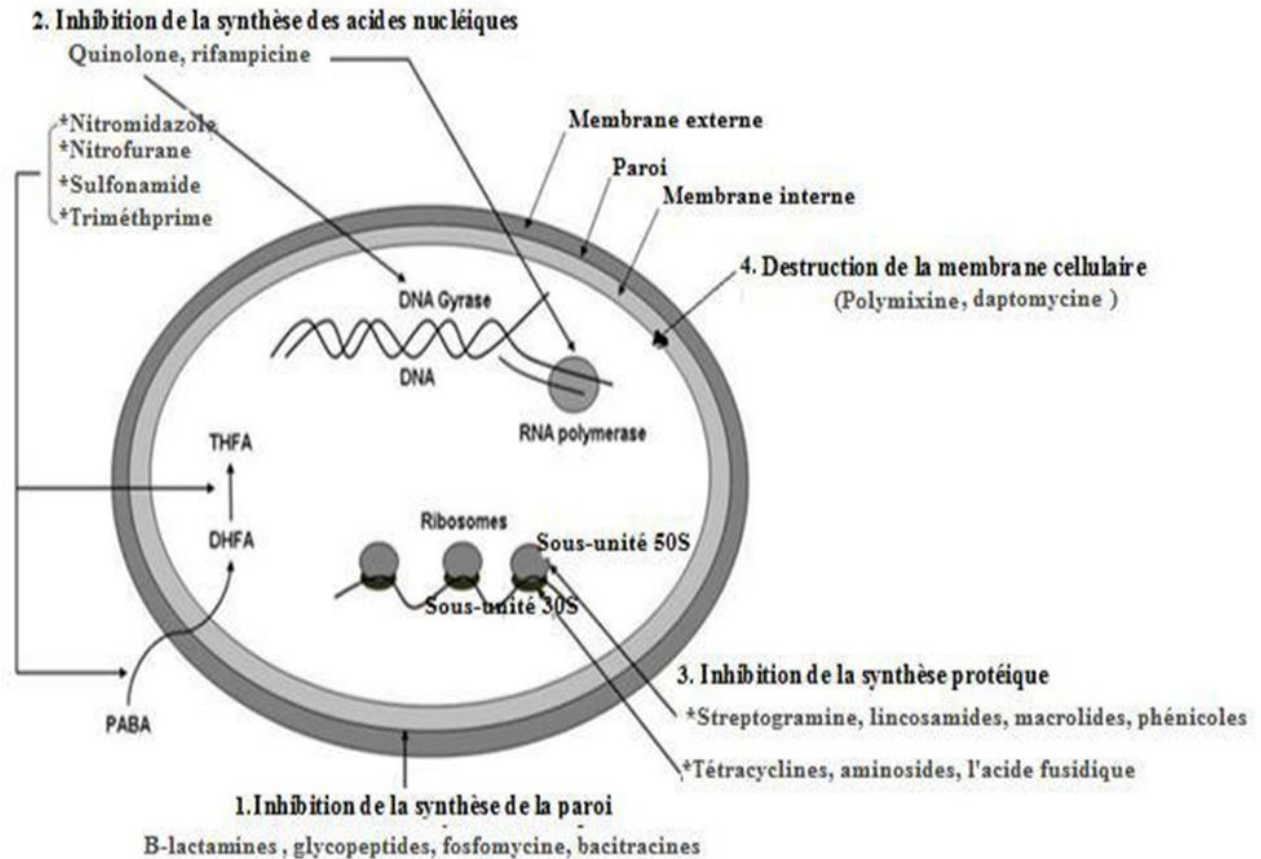


Figure 15 : principales cibles cellulaires des antibiotiques (Islam, 2008 ; Lewis, 2013).

Les recherches focalisées sur la découverte de nouvelles voies d'inhibition en utilisant de nouveaux médicaments à base des plantes, constituent une source d'inspiration (Billing et Sherman, 1998), ils ont prouvé que les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité *vis-à-vis* des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiennes, les protéines de transport et l'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

11. Activité antibactérienne de *N.sativa* (Aromathérapie)

Depuis longtemps, l'aromathérapie des infections d'origine microbienne notamment la gingivite, les lésions superficielles purulentes et les infections urinaires a pris sa part que ce soit dans la médecine traditionnelle ou la recherche scientifique dont *N. sativa* est l'une des plantes médicinales traditionnellement utilisées et scientifiquement évaluées pour leur activité antimicrobienne (Bourgou *et al.*, 2010).

L'aromathérapie est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles (Girault et Bougeon, 1971). Cet examen est équivalent à un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences préalablement sélectionnées et reconnues. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier (de cellulose) de 6 mm sur lequel on dispose une quantité donnée d'huile essentielle (10 μ l). Après ensemencement et incubation, on mesure le diamètre des zones d'inhibition (Bondi *et al.*, 1993).

Plusieurs études consacrées à l'huile essentielle de *N. sativa* et ses constituants ont révélé que l'efficacité, le large spectre et le potentiel antimicrobien puissant de cette plante pourraient être dues aux phénols de la fraction volatile (figure 16): la thymoquinone (TQ), la dithymoquinone (DTQ) également appelée nigellone, la thymohydroquinone (THQ), le thymol (THY) et la *p*-cymène (Gazengel *et al.*, 2013), plus la présence des alcools (α -terpineol, terpinen-4-ol, linalol), des aldéhydes, des cétones, des alcaloïdes et plus rarement des carbures (Dorman et Deans, 2000).

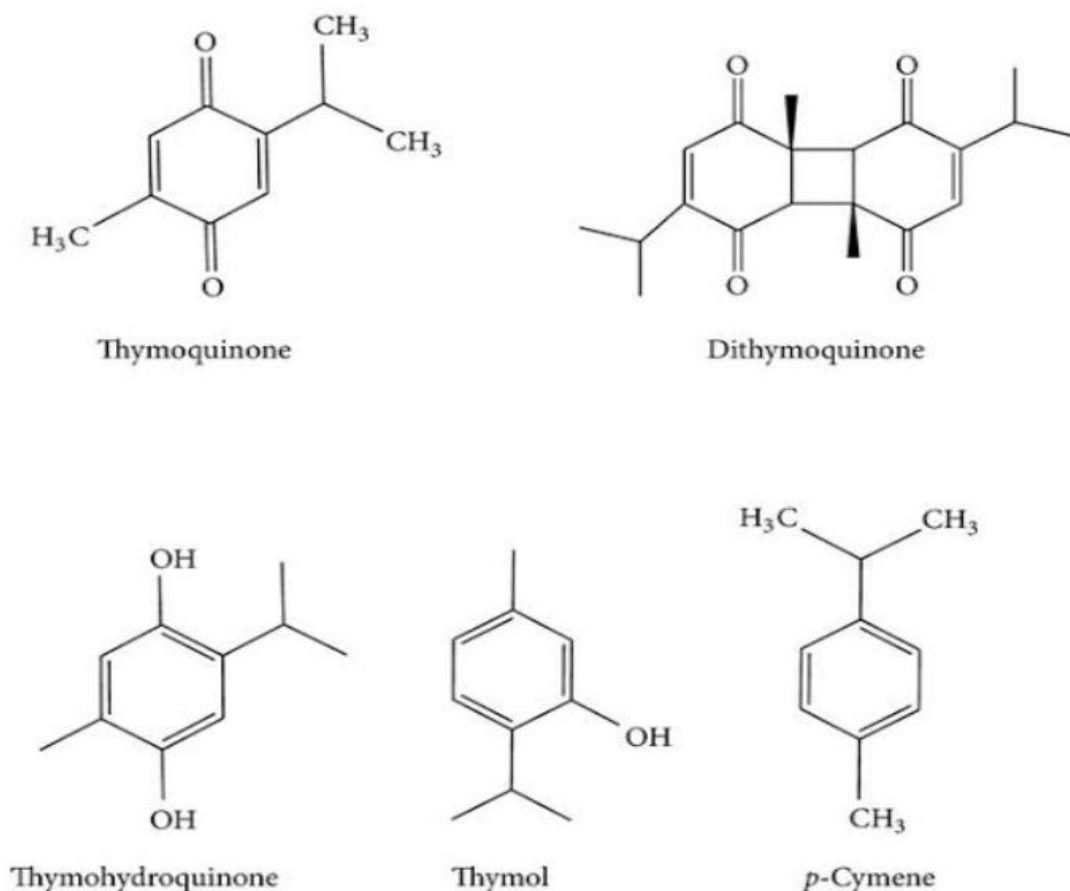


Figure 16 : Structure chimique des principes actifs de l'huile de *N. sativa* (Amin, 2015).

Environ 40% d'une huile grasse constituée principalement d'acides gras insaturés comme l'acide linoléique (58.73%) et l'acide oléique (21.67%) (Bruneton, 2016). En 2012, Harzallah et ses collaborateurs proposaient la probabilité que ces composés peuvent agir en mode d'addition ou de synergie en augmentant la propriété antimicrobienne de cette huile (Harzallah *et al.*, 2012).

L'extrait méthanolique obtenu à partir des graines de *N.sativa* sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* possèdent des effets inhibiteurs contre les souches avec des valeurs CI_{50} de 38,0 mg/mL pour *S. aureus* et 80,0 mg/mL pour *E. coli* (Zeggwagh *et al.*, 2013.) . Cette étude démontre que l'extrait méthanolique a un pouvoir d'inhibition plus élevé sur les souches à Gram positif (*S. aureus*) que à Gram négatif (*E. coli*) (Harzallah *et al.*, 2012),cette activité traduite de façon qualitative par l'estimation du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques et quantitative par la détermination de la concentration inhibitrice minimale (Akloul *et al.*,2014).

Le tableau suivant démontre les zones d'inhibition des huiles de *N.sativa* sur quelques souches.

Tableau VI: Activité antibactérienne des huiles essentielles de *N.sativa* (Akloul *et al.*, 2014 ; Hadjazi *et al.*, 2015).

Souches testées	zone inhibition (mm)
<i>E.coli</i> (à Gram ⁻)	14
<i>S.aureus</i> (à Gram ⁺)	25
<i>Pseudomonas</i>	10
<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>S. typhi</i> , <i>E.aerogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E.coli</i> .	32,15,14,14, 13, 9 Respectivement

Les mécanismes d'action des huiles essentielles ne sont pas complètement élucidés car ils sont très complexes et leur spectre d'action est très étendu (Billerbeck, 2007). Cette activité dépend en premier lieu de type, de caractéristiques et de la composition chimique des composants actifs. Le caractère hydrophobe permet leur solubilisation et accumulation dans la bicouche lipidique des membranes, ce qui provoque des dégâts irréversibles de déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire des ions de (K^+ , H^+) et de l'ATP (Boukhatem *et al.*,2010; Soares *et al.*2011; Liolios *et al.*, 2009). Ces

modifications entraînent une fuite d'ions et d'organites contenus dans les cellules, entraînant la mort cellulaire (Enwuru *et al.*, 2008). D'autre part, la présence des composés terpéniques dont les alcools (Saad *et al.*, 2010) et les cétones (Bourgou *et al.*, 2010) dans ces huiles seraient probablement parmi les acteurs de ces activités.

En outre, l'inactivation des enzymes impliquées dans la production de l'énergie et la synthèse des composants de structure de la cellule bactérienne (Hussain *et al.*, 2010), la destruction du matériel génétique (Nedorostova *et al.*, 2009) et la diminution de la virulence des bactéries par inhibition de la production des toxines (Saad *et al.*, 2010; Athina, 2010), ce sont des modes d'action secondaires de ces huiles.

11.1. Activité antibactérienne de thymoquinone

D'après des études de l'action de thymoquinone sur des souches bactériennes *in vitro*, les résultats ont montré une activité significative contre les bactéries à Gram⁺ (*S. aureus*) que les bactéries à Gram⁻ (*E. coli*) qui ont moins sensible. Ce qui indique que la Thymoquinone possède des propriétés antibactériennes sélectives (Abdesslam, 2015).

Cette sensibilité est liée à l'organisation structurale de la paroi cellulaire des bactéries à Gram⁺ qui est moins complexe que celle des bactéries à Gram⁻ (Kalemba et Kunicka, 2003). En effet, la bactérie à Gram⁻ possède une résistance intrinsèque aux antibiotiques, en relation avec la nature de sa membrane externe. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes (Mann *et al.*, 2000).

Le mode d'action de TQ dépend en particulier de sa propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation des enzymes membranaires, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions K⁺, des H⁺, d'ATP et des acides nucléiques et/ou d'interférer avec la chaîne respiratoire de la bactérie, ce qui entraîne la mort cellulaire (apoptose) (Bourgou *et al.*, 2010; Soares *et al.*, 2011). Ce mécanisme a été observé de façon très forte avec les bactéries à Gram⁺ (*S. Aureus*) et très faible avec les bactéries à Gram⁻ (*E. coli*) (Cox *et al.*, 2000; Carson *et al.*, 2002).

11.2. Activité antibactérienne de thymol

Une étude évaluant l'activité antibactérienne du thymol permet de valider l'action antibactérienne de celui-ci sur les souches bactérienne à Gram⁺: *S.aureus* et d'autres bactéries

à Gram⁻ : *E.coli*. Les résultats ont montré que les bactéries à Gram⁺ sont plus sensible par rapport à Gram⁻ (Mathela, 2010).

Par ailleurs, d'autres recherches scientifiques ont attribué au thymol une activité bactéricide notable, surtout sur les bactéries à Gram⁺ car les bactéries à Gram⁻ sont constituées d'une membrane externe alors que les bactéries à Gram⁺ sont formées d'une paroi cellulaire. Ainsi les bactéries à Gram⁻ présentent une plus forte résistance à l'action des huiles essentielles du fait de leur structure plus complexe de la membrane extérieure qui est difficilement franchissable (cabarkapa *et al.*, 2015).

Plus fréquemment le mode d'action par lequel le thymol inhibe et réduit la croissance bactérienne est attribué à son nature hydrophobe qui lui confère la capacité de s'intégrer dans les membranes en provoquant une dis-rupture de cette membrane (Helander *et al.*, 1998) et aussi de la paroi cellulaire en entraînant une fuite de contenu intracellulaire et perturbation de la fonction normale de la membrane qui provoque la lyse bactérienne (Lambert *et al.*, 2001; Gill et Holley, 2006a).

Un autre mécanisme de cette action antibactérienne consiste à l'inhibition des pompes d'efflux connues pour être responsables de résistance biotique, perturbations de l'équilibre d'ATP et augmentation de la libération d'autres composants cellulaires qui altèrent les activités cellulaires à médiation énergétique(Zuo *et al.*2010 ; Elshafie et Camele 2017).

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Nigella sativa est une plante miraculeuse utilisée depuis longtemps comme remède des maladies humaines puisqu'elle contient dans son huile essentielle des composants chimiques de valeur thérapeutique. En effet, nous avons vu la multitude de travaux réalisés *in vitro* et *in vivo*, et le nombre considérable de pathologies que cette plante peut traiter.

Dans notre présent travail théorique, on a présenté les effets pharmacologiques de l'huile essentielle de *N. sativa* et de ses principaux constituants; la thymoquinone et le thymol. Plus précisément, on a ciblé leur efficacité antimicrobienne qui a permis de les proposer comme des futurs agents antimicrobiens alternatifs plus puissants que les antibiotiques dérivés de l'industrie chimique.

Dans la perspective d'utilisation en tant que médicament sur l'homme, nous avons recommandé de réaliser d'autres essais *in vivo* afin de développer des approches appropriées dans le but d'une éventuelle application chez l'homme.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Abdel-Aal, et Attia, R. (1993). Characterization Of Black Cumin (*Nigella sativa*) seeds. Alexandria Sci Exch J, (14), 497-482.

Abdelmeguid NE, Fakhoury R, Kamal SM, Al Wafai RJ (2010). Effects of *Nigella sativa* and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β -cells of streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Diabetes. 2(4): 256-266.

Abdesselam Badr-Eddine. 2015. « Approche ethno pharmacologique de *Nigella sativa* » thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie université de Picardie jules verne.

Abdessalam A.D,2002, Etude comparative de la fertilité de deux milieux de culture d'origine différente, utilisés pour la recherche des coliformes thermotolérants dans les filets de poissons congelés. Mémoire de DEA1 Productions Animales: Dakar; 8

Abdul Majeed, , Zahir Muhammad, Habib Ahmad, Rehmanullah, Sayed Sardar Sikandar Hayat, Naila Inayat, Saira Siyyar (2020). *Nigella sativa* L: utilisations dans les médecines traditionnelles et contemporaines. CHNAES-00681; De pages 6.

Abid Nordin, *Nigella sativa* et son composé actif, la thymoquinone, accélèrent la cicatrisation des plaies dans un modèle animal in vivo: un examen complet, Publier le 11 juin 2020 , Faculté de médecine, Université nationale de Malaisie, Cheras.

Agrawal R ,Kharya md ,Shrivastava R (1979).Antimicrobial anthelmintic activities of the essential oil of *Nigella sativa* Linn .Indian journal of experimental biology .17: 1264 –1265.

Ahmad, A, Fauzia, E., Kumar, M., Mishra, R.K., Kumar, A., Khan, M.A., Raza, S.S., Khan,R., 2018. Gelatin-Coated Polycaprolactone Nanoparticle-Mediated Naringenin,delivery rescue Human Mesenchymal Stem Cells from Oxygen Glucose DeprivationInduced Inflammatory Stress. ACS Biomaterials Science & Engineering 5 (2), 683–695.

Akhodian, J., PARSA, A., & Bakhshande, H. (2007).The effect of *Nigella sativa* L. (black cumin seed) on intractable pediatric seizures. Med Sci Monit , 13 (12), 555-559.

Akloul R. Benkaci-Ali F.Zarouki M Gauthier E 2014. Composition and biological activity of essential oil of *Nigella sativa* seeds isolated by accelerated microwave steam distillation with cryogenic grinding. Journal of essential oils and natural products 13 23- 33.

Akova, A., Ustun, G. (2000). Activity And Adsorption Of Lipase From *Nigella Sativa* L. Seeds On Celite At Different Ph Values. *Biotechnology Letters*, 22: 355-359.

Al-Ali, A., et al., Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 2008. 20(2): p. 25-7.

Al-Amri, A.M., Phase I safety and clinical activity study of thymoquinone in patients with advanced refractory malignant disease. *Shiraz E-Med*, 2009. 10: p. 107-111.

Alenzi FQ, Altamini MA, Kujan, O. Anti-oxidant properties of *Nigella sativa*. *Mol Genet Med* 2013; 7(3): 1000077.

Ali, B., & BLUNDEN, G. (2002). Pharmacological and Toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res* , 15, 59-69.

Aljabre. S.H.M., M.A. Randhawa., N. Akhtar., O.M. Alakloby., A.M. Alqurashi., A. Aldossary. 2005. «Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone.» *Journal of Ethnopharmacology*. 101: 116-119.

AL-jishi s.a., abuo hozaifa b. effect of *Nigella sativa* on blood hemostatic function in rats. *J.Ethnopharmacol*. 2003; 85: 7-14.

Alkharfy KM, Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Alokail MS (2011). The protective effect of thymoquinone against sepsis syndrome morbidity and mortality in mice. *International immunopharmacology*. 11(2): 250-254.

Al-Majed A.A. ; Daba M.H. ; Asiri Y.A. ; AL-shabanah O.A. ; Mostafa A.A. ; ELkashef H.A. 2001. Thymoquinone-induced relaxation of guinea pig isolated trachea. *Res. Commun.Mol.Pathol.Pharmacol.* : 110 333-34.

Al-Majed A.A., Al-Omar F.A., Nagi M.N. Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *European Journal of Pharmacology*. 2006; 543:40-47.

AL-Naggar, T., Gomez Serranillos, M. ,Carretero, M., & Villar, A. (2003). Neuropharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts. *J Ethnopharmacol* , 88, 63-68.

Al-Naqeep. G., A. Al-Zubairi., M. Ismail., Z. Amom., & N. Esa. 2011. «Antiatherogenic Potential of *Nigella* Seeds Oil in Diet-Induced Hypercholesterolemia in Rabbits.» *Evid Based Complement Alternat Med* , 213-628.

Alobaedi, O.H., Talib, W.H., Basheti, I.A., 2017. Antitumor effect of thymoquinone combined with resveratrol on mice transplanted with breast cancer. *Asian Pacific journal of tropical medicine* 10 (4), 400–408.

Altoparlak, U., Aktas, F., Celebi, D., Ozkurt, Z., Mufide, N., Akcay.(2005). Prevalence of metallo-beta-lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wounds and in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. *Burns*, 31: 707–710.

Altoparlak, U., Aktas, F., Celebi, D., Ozkurt, Z., Mufide, N., Akcay.(2005). Prevalence of Alwadei, M., Kazi, M., Alanazi, F.K., 2019. Novel oral dosage regimen based on selfnanoemulsifying drug delivery systems for codelivery of phytochemicals-curcumin and thymoquinone. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 1-11.

Al-saleh I., billedo g., el-doush I. Levels of selenium, DL- α -tocopherol, DL- γ tocopherol, alltrans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *J Food Comp Analysis*.2006; 19: 167-175.

Ammar E-SM, Gameil NM, Shawky NM, Nader MA (2011).Comparative evaluation of anti-inflammatory properties of thymoquinone and curcumin using an asthmatic murine model.*International immunopharmacology*. 11(12): 2232-2236.

Armutcu, F., Akyol, S., Akyol, O., 2018. The interaction of glutathione and thymoquinone and their antioxidant properties. *Electronic Journal of General Medicine* 15 (4), 1-8.

Arunasree, K. M. (2010). Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine*, 17(8– 9), 581–588.

Athina, G., Ntzimani, Vasiliki, I., Giatrakou, Ioannis, N., Savvaidis. (2010).Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozym , rosemary and oregano oil)on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4 °C: Microbiological and sensory evaluation. *Innov.Food Sci. Emerg. Technol.*, 1: 1187–1196.

Atta, M. B. (2003). Some Characteristics Of *Nigella* (*Nigella Sativa* L.) Seed Cultivated In Egypt And Its Lipid Profile. *Food Chemistry*, 83: 63–68.

Atta-Ur-Rahman M., Ahmed S., Choudhary M., Habib-Urrahman.(1985). Nigellimine-N-Oxide-A New Isoquinoline Alkaloid From The Seeds Of *Nigella Sativa* L. *Heterocycles*; 23: 953-955.

Atta-Ur-Rahman M., Hassan S., Coudhary M., Ni C., Clardy J. (1995). Nigellidine: A New Indazole Alkaloid From The Seeds Of Nigella Sativa L. *Tetrahedron Letters* ; 36: 1993-1996.

Atta-Ur-Rahman M., Zaman K. (1992). Nigellimine: A New Isoquinoline Alkaloid From Nigella Sativa L. *J Nat Prod* (55), Pp. 676-678.

Attoub S, Sperandio O, Raza H, Arafat K, Al-Salam S, Al Sultan MA, et al. (2013) Thymoquinone as an anticancer agent: evidence from inhibition of cancer cells viability and invasion in vitro and tumor growth in vivo. *Fundamental & clinical pharmacology*. 27(5): 557-569.

- B -

Badary, O.A., Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice. *Drug Dev Research*, 1998. 44(2-3): p. 56-61.

Bakkali, F., Averbek.S., Averbek.D., Idaomar. M (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*; 46: 446–475.

Bamosa, A.O., B.A. Ali, and Z.A. al-Hawsawi. 2002. The effect of thymoquinone on blood lipids in rats. *Indian J Physiol Pharmacol.*, 46(2): p. 195-201.

Bamosa, A.O., et al., Effect of Nigella sativa seeds on the glycemic control of patients with type 2 diabetes mellitus. *Indian J Physiol Pharmacol*, 2010. 54(4): p. 344-54.

Benhaddou Andaloussi Ali (2009) - Étude des propriétés antidiabétiques de Nigella sativa : sites d'action cellulaires et moléculaires. *Mém. (PhD). Pharmacologie. Univ. Montréal.* pp 43-45.

Benkaci–Ali., F. Baaliouamer., A. Meklati., B.Y., Chemat, F. (2007). Chemical composition of seed essential oils from Algerian Nigella sativa extracted by microwave and hydrodistillation. *Flavour & Fragrance Journal*. 22: 148-153.

Benzine O. (2014) .Caractérisation par HPLC de quelques composés chimique de l'huile de nigelle (Nigella Sativa), et recherche d'une activité antimicrobienne.

Bhupendra K M , Prabha M , Gupta M (2009) . A new naturally acetylated triterpene saponin from Nigella sativa .*Carbohydrate Research* . 344: 149 – 151.

Billerbeck.Essential oils and antibiotic-resistant bacteria.*Phytothérapie*. 5, 2007, 249–253.

Billig J., Sherman PW., 1998. Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *Q.Rev. Biol.* 73: 3-49.

Bondi D., Cianci P., Geraci C., Giuseppe R. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour Frag J.* 1993; 8: 331-7.

Bonnier G., Douin R. (1993). *La Grande Flore En Couleur*. Paris : Tome 3, Belin.

Boskabady, M., ShirmohammadI, B., jandaghi, P., & Kiani, S. (2004). Possible mechanism(s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from *Nigella sativa* on tracheal chains of guinea pigs. *BMC Pharmacology* , 4, 1471-2210.

Boskabady, M.H; Sharavi.N. (2000). Inhibitory effect of *Nigella sativa* on histamine (H1), Receptors of isolated guinea pig tracheal chains. *Eur.Respir.J.*: 16 461s.

Boublenza I.,2009. contribution à l'étude de l'analyse de l'huile de *Citrullus colocynthis* (coloquinte) et de son pouvoir antimicrobien .mémoire de magister de biologie, université Abdou-bakrbelkaid ,Tlemven.PI-3.

Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., Hakim, Y. (2010).Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Rev. Nat. Technol.*, N° 03: 37–45.

Boulatika Y.et Habis.,2012.contribuion à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile d'olivier (*Olea eurpaea*),l'huile de (*Nigella sativa*),l'huile de coloquinte (*Citrullus colocynthis*),l'huile de tournesol(*Helientusannuss*).mémoire d'ingénieur de biologie, université Abdou-bakrbelkaid ,Tlemven.PI.

Bourgou, S., Pichette, A., Marzouk, B., Legault, J. (2010). Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia South African.*J. Bot.*, 76: 210– 216.

Bousseboua H. Éléments de microbiologie : Programme de graduation : biologie, médecine, pharmacie, chirurgie dentaire, sciences vétérinaires, sciences alimentaires, agronomie. 2ème édition. Edition Campus-Club, 2005, 304p.

Bousseboua,microbiologie générale ,janvier 2002,Edition de l'université Montouri cstantine (Algerie),1,15,17,148,160,161,162.pp.

Braga, G. J. ; Pedreira, C. G. S. ; Herling, V. R. ; Luz, P. H. de C. ; Lima, C. G. de, 2006, Sward structure and herbage yield of rotationally stocked pastures of 'Marandu' palisadegrass (*Brachiaria brizantha* (A.Rich.) Stapf) as affected by herbage allowance. *Scientia Agricola*, 63 (2): 121-129

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (5e ed.). Paris : Lavoisier, (2016).

Bruneton J. (1999). Flavonoïdes. In : Pharmacognosie, Phytochimie: Plantes Médicinale, 3^{ème} Edition, Technique Et Documentation (Paris), Pp : 310-353.

Buisso and E. Girou. Les infections nosocomiales : bilan et perspectives. *Med. Sci.* 16, 2000, 892-9.

Burits, M., Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil .*Phytotherapy research*. 14: 323-328. repéte.

- C -

Cabarkapa, I., Škrinjar, M., Lević, J., Blagojev, N., Kokić, B., Plavšić, D., & Suvajdžić, L (2015). Influence of thymol and carvacrol on initial cell attachment and biofilm of *Candida albicans*. *Food and Feed Research*, 42, 23–30.

Carson C.F., Mee B.J. & Riley T.V., 2002.- Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46: 1914–1920.

Chakravarty, N .1993. Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. *Ann Allergy*, 70(3): p. 237-42.

Cheikh-rouhou, S., besbes, s., lognay, g., blecker, c., deroanne, c., & h, a. (2008). sterol composition of black cumin (*nigella sativa*) and aleppo pine (*pinus halepensis* Mill.) seed oils. *J Food Comp Analysis* (21), 162-168.

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.

Cihan Toporslan.2012. « À propos de *Nigella sativa* » thèse d'obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie université de lorraine.

Colomban Ph. et Tournié A. (2010) Les cendres végétales, matières premières des verres et des émaux : un exemple, les cendres de végétaux utilisées par Fr. D de Montmolin. Laboratoire de Dynamique, UMR7075 CNRS. Université Pierre-et-Marie-Curie (UPMC), France.

Cowan M. J. 1999 Plants products as microbial agents. Clin microbiol rev, , 12: 564-582.

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J. E., Warmington J. R., & Wyllie S.G., 2000.- The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology 88: 170-175.

- D -

Darakhshan S, Bidmeshki Pour A, Hosseinzadeh Colagar A, Sisakhtnezhad S (2015). Thymoquinone and its therapeutic potentials. Pharmacological research. 95-96: 138-158.

Dawidar A.M ; Ezmirly S.T. ; Abdel-Mogib M. ; Hashem N. ; Kasem T. (2001). New P-Hydroxyacetophenone From *Nigella Sativa* L. Journal Of Saudi Chemical Society: 5 189-192.

Delarras C. Microbiologie. 90 heures de Travaux pratiques. Gaëtan Morin, France, 1998, 276p.

Dennis, EA; Norris, tempête Eicosanoid PC dans l'infection et l'inflammation. Nat. Rev. Immunol., 2015, 15 (8), 511.

Dominic Ominiczka, A., Lazar, D., Das, A., & Bohr, D. 1991. Lipid Bilayer in genetic Hypertension. Hypertension, 18, pp. 748-757.

Dorman H. J. D. et Deans S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol 2000; 88(2): 308-16.

Dorywalska, M., Blanchard, Gonzalez, & R.L., & Kim, & H.D., & Chu, & S. & Puglisi, & J.D. & (2005) & Site specific labeling of the ribosome for single molecule spectroscopy

- E -

El-Kadi. A., O. Kandil., A.M. Tabuni. 1987. «*Nigella sativa* cell-mediated immunity » Archives of AIDS research. 1: 232-233.

El Gazzar, M.; El Mezayen, R.; Nicolls, M.R.; Marecki, J.C.; Dreskin, S.C. Down regulation of leukotrienes biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. Biochim. Biophys. Acta, 2006, 1760(7), 1088-1095.

El Tahir. KE., MM. Ashour. and MM. al-Harbi. 1993. «The cardiovascular actions of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in rats: elucidation of the mechanism of action.» *Gen Pharmacol*, 24, pp. 1123-1131.

Ela M.A., El-Shaer N.S. et Ghanem N.B. (1996) Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*; 51 pp.993- 995.

Elbarbry F, Ragheb A, Marfleet T, Shoker A (2012). Modulation of hepatic drug metabolizing enzymes by dietary doses of thymoquinone in female New Zealand White rabbits. *Phytotherapy research : PTR*. 26(11): 1726-1730.

El-Dakhakhny M (1963). Studies on the chemical constitution of Egyptian *N. sativa* L. seeds. III) The essential oil. *Planta medica*. 11: 465-470.

El-Dakhakhny M., Mady N. I., Lember N., et al. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *J Ethnopharmacol*. 2002; 81(2): 161-4.

El-Dakhakhny, et al., Effects of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats, *J. Ethnopharmacol*. 72 (2000) 299–304.

EL-Dakhakhny, M. (1965).Studies on the Egyptian *Nigella sativa* L.Some pharmacological properties of the seeds active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer.*Arzneimittelforschung* , 15, 1227-1229.

El-Dakhakhny, M., N.I. Mady, and M.A. Halim. 2000. *Nigella sativa* L. oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. *Arzneimittelforschung*., 50(9): p. 832-6.

El-Kadi. A., et O. Kandil. 1987. «The black seed (*Nigella sativa*) and immunity : its effect on human T celle subset.» *Federation Proceedings* , 46, 1222.

El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shiina T, Matsuyama H, El-Sayed M, Takewaki T (2005),Successful abrogation by thymoquinone against induction of diabetes mellitus with streptozotocin via nitric oxide inhibitory mechanism. *International immunopharmacology*. 5(1): 195-207.

El-Najjar N, Chatila M, Moukadem H, Vuorela H, Ocker M, Gandesiri M, et al. (2010). Reactive oxygen species mediate thymoquinone-induced apoptosis and activate ERK and JNK signaling. *Apoptosis*.

Elshafie, HS et I. Camele. 2017 . Un aperçu du biologiqueffets de certaines huiles essentielles méditerranéennes sur la santé humaine.

Enomoto. S., R. Asano., Y. Iwahori., T. Narui., Y. Okada., A. Singab., et al.2001.«Hematological studies on black cumin oil from the seeds of *Nigella sativa* L.» Biol PharmBull , 24, 307-310.

Enwuru, N.V., S.O. Ogonnia, F. Nkemhule, C.a. Enwuru and O. Tolani, (2008).Evaluation of antibacterial activity and acute toxicity of the *Stachytarpheta angustifolia* (Mill) Vahl. Afr. J. Biotechnol., 7: 1740-1744.

Eskander.EF., H. Won-Jun., KA. Ibrahim.and WE. Abdelal. 1995.«Hypoglycemic effect of a herbal formulation in alloxan induced diabetic rats.» Egyptian journal of pharmaceutical sciences, 36, pp. 253-270.

- F -

Fabienne ORSI. 2004. « la nigelle, une epice d'interet medicinal » thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie université de joseph fourier.

Fallah Huseini, H., et al .2013. Blood Pressure Lowering Effect of *Nigella sativa* L. Seed Oil in Healthy Volunteers: A Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled Clinical Trial. Phytother Res.

Fararh K.M., shimizu y., shiina t., nikami h., ghanem m.m., takewaki t. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. Research in Veterinary Science. 2005; 79: 219-223.

Farkhondeh, T .; Samarghandian, S .; Azimin-Nezhad, M .; Samini, F. Effet de la chryisine sur la nociception dans le test au formol et les taux sériques de noradrénaline et de corticostérone chez le rat. Int. J. Clin. Exp. Med., 2015, 8 (2), 2465 à 2470.

Filippo D'Antuono L, Moretti A, Lovato Antonio FS: rendement en graines, composants de rendement, teneur en huile essentielle et composition *Nigella sativa* une Terre damascena L. Indust Crops Prod, 2002; 15: 59–69.

- G -

Gali-Muhtasib H, Diab-Assaf M, Boltze C, Al-Hmaira J, Hartig R, Roessner A, et al. (2004a),thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human

colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *International journal of oncology*. 25(4): 857-866.

Gazengel J-M., Orecchioni A-M. *Le préparateur en pharmacie*. 2ème édition. Ed. Lavoisier, Paris, 2013.

Ghedira K (2006) . La nigelle cultivée: *Nigella sativa* L(Ranunculaceae) *Phytothérapie* 4:1– 7.

Ghedira, K. and R.L. Jeune.2010 .Huile de nigelle cultivée, *Nigella sativa* (Ranunculaceae), *Phytothérapie*,. 8: p. 124-128

Gilani, A.H., et al., Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses. *J Pak Med Assoc*, 2001. 51(3): p. 115-20.

Gilani, A.H., Jabeen, Q., Khan, M.A.U. (2004). «A review of medicinal uses and pharmacological activities of *Nigella sativa*.» *Pakistan journal of biological sciences*.7: 441 451.

Gilhotra.N.,& D. Dhingra. 2011. «Thymoquinone produced antianxiety-like effects in mice through modulation of GABA and NO levels.»*Pharmacol Rep* , 63, 660-669.

Gill, AO et RA Holley. 2006a. Perturbation d' *Escherichia coli* ,Membranes cellulaires de *Listeria monocytogenes* et *Lactobacillus sakei* par des huiles végétales aromatiques. *Journal international de microbiologie alimentaire*108 (1): 1–9.

Girault M., Bougeon J. *L'aromatogramme*. Cahier de biothérapie, 1971; n°29.

Gohari AR, Ostad SN, Moradi-Afrapoli F, Malmir M, Tavajohi S, Akbari H, et al. (2012),evaluation of the cytotoxicity of *Satureja spicigera* and its main compounds. *The Scientific World Journal*.2012: 203861.

Greenish, H. (1880) . Contribution of the chemistry of *Nigella sativa* (Vol.10). *Parmac J Trans*.green% fluorescent% protein.% Nature's structural & molecular biology, "21,"658"663.

Grosso C, Figueiredo AC, Burillo J, Mainar AM, Urieta JS, Barroso JG, et al. (2010), composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* volatiles: comparison between supercritical fluid extraction and hydrodistillation. *Journal of separation science*. 33(14): 2211-2218.

Hosseinzadeh, H et al., Intracerebroventricular administration of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds suppresses epileptic seizures in rats, *Med. Sci. Monit.* 11 (2005) 106–110.

Hosseinzadeh, H. Black Cumin (*Nigella sativa*) and Its Active Constituent, Thymoquinone: An Overview on the Analgesic and Anti-inflammatory Effects. *Planta Med.* 2015, 82, 8–16.

Hadjazi K larbi daouadji .F Z I Reffas MI BENINE and B Abounni ,2015 Antibacterial activity of essential oil of *Nigella sativa* L Against pathogenic activity bacteria *global journal of biotechnology and biochemistry*.

Hajhashemi V., Ghannadi A., Jafarabadi H. Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and anti-inflammatory drug. *Phytother Res.* 2004; 18(3): 19-59.

Hamrouni-SELLAMI, I., KCHOUK, M., & MARRZOUK, B. (2008). Lipid and aroma composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds from Tunisia. *J Food Biochem* (32), 335-352.

Hanieh Shaterzadeh-Yazdi , Mohammad-Foad Noorbakhsh ,,Farzad Hayati Samarghandian Saeed Samarghandian ,et Tahereh Farkhondeh.2018; Effets immunomodulateurs et anti-inflammatoires de la thymoquinone, Centre de recherche de l'hôpital Pardis, Mashhad, Iran,18, 52-60.

Haq, A.,M.Abdullatif., P.I. Lobo., K.S.A. Khabar., K.V. Sheth., S.T. Al-Sedairy.1995.«*Nigella sativa*: effect on human lymphocytes and polymorphonuclear leukocyte phagocytic activity». *Immunopharmacol.*, 30, 147-155.

Haq. A., P.I. Lobo., M. Al-Tufail., N. Rama., S.T. Al-Sedairy. 1999.«Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography.» *International Journal of Immunopharmacology.* 21: 283-295.

Harzallah H.J., Noumi E., Bekir K., Bakhrouf A and Mahjoub T. (2012),chemical composition, antibacterial and antifungal properties of Tunisian *Nigella sativa* fixed oil. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(22) pp. 4675-4679.

Hashim, F, & El-kiey, M. (1982). *Nigella sativa* seeds of Egypt. *J Pharm Sci UAR* (3), 121133.

Hayat, K., et al .2011. Ameliorative effect of thymoquinone on ovalbumin-induced allergic conjunctivitis in Balb/c mice . *Curr Eye Res.*, 36(7): p. 591-8.

Helander, IM, HL Alakomi,K. Latva-Kala, T. Mattila-Sandholm, I.Pol, EJ Smid, LGM Gorris et A. von Wright. 1998.

Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult JR (1995). Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta medica.* 61(1): 33-36.

Hussain J, Bukhari N, Hussain H, Rehman NU, Hussain SM (2010). Chemical constituents of *Nepeta distans*. *Natural product communications.* 5(11): 1785-1786.

Hussain, A. I. , Anwar, F., Nigam, P. S., Sarker, S. D., Moore, J. E., Rao, J. R., Mazumdar, A (2010). Antibacterial activity of some Lamiaceae essential oils using resazurin as an indicator of cell growth. *LWT- Food Sci. Technol.*, 44: 1199–1206.

- I -

Ilhan n., SEÇKIN D. Protective effect of *Nigella Sativa* seeds on CCL4–induced hepatotoxicité. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi.* 2005; 19(3): 175-179.

Islam, S.N., P. Begum., T. Ahsan., S. Huque., M. Ahsan. 2004. «Immunosuppressive and cytotoxic properties of *Nigella sativa*». *Phytotherapy Res.*, 18, 395-398.

Ismail M, Al-Naqeep G, Chan KW (2010). *Nigella sativa* thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats. *Free radical biology & medicine.* 48(5): 664-672.

- J -

Jaff L, Wayne L. Collaboré avec les bactéries et autre micro-organisme ; ouvrage réalisé par le studio graphique des éditions du rouergue Achévé d'imprimer en mars 2008 sur les presses de Tipostampa. AS 5778, chapitre 3, p 44.

Jordan, W., Van Barneveld, H., Gerlich, O., Kleine-Boymann, M., and Ullrich, J. (1991) “Phenol,” in *Ullmanns Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 5th Edn, Vol. A 19, eds B. Elvers, S. Hawkins, and G. Schulz (Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA), 299–312.

Joshi B.S.; Singh K.L ; Roy R. (2001). Structure Of A New Isobenzofuranone Derivates From Nigella Sativa L. in Mag.Res.Chem: 39 771-772.

- K -

Kalemba D. & Kunicka A., 2003.- Antibacterial and antifungal properties of essential oils, current Medicinal Chemistry. 10: 813-829.

Kamel Chaieb ,Bohra Kouidhi †, Hanene Jrah, Kacem Mahdouani et Amina Bakhrouf, Activité antibactérienne de la thymoquinone, un principe actif de Nigella sativa et sa puissance pour empêcher la formation de biofilm bactérien. Chaieb et al. BMC Médecine complémentaire et alternative 2011, 11: 29 ;1472-68821.

Kamio, Y., and Nikaido, H. (1976). Outer membrane of Salmonella typhimurium: accessibility of phospholipid head groups to phospholipase c and cyanogen bromide activated dextran in the external medium. Biochemistry (Mosc.) 15, 2561–2570.

Kang, SH, Kim, YS, Kim, EK, Hwang, JW, Jeong, JH, Dong, X., Lee, JW, Moon, SH, Jeon, B.T., et Park, PJ (2016). Effet anticancéreux du thymol sur les cellules de carcinome gastrique humain AGS. Journal of Microbiology and Biotechnology, 26 (1), 28–37.

Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H (2005). Gastroprotective activity of Nigella sativa L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. World journal of gastroenterology. 11(42): 6662-6666.

Karina Kachur & Zacharias Suntres (2019), The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol; Critical Reviews in Food Science and Nutrition.

Kazemi M. (2015). Chemical Composition And Antioxidant Properties Of The Essential Oil Of Nigella Sativa L. Bangladesh J. Bot. (March); 44(1): 111-116.

Khaldi Zineb .Elaboration et évaluation biologique de nouveaux matériaux ligno-cellulosiques antibactériens. Autre. Université de Limoges, 2018. Français. ffNNT : 2018LIMO0090ff. fftel-02045667.

Khan, M. (1999). Chemical composition and medicinal properties of Nigella sativa Linn. Inflammopharmacology, 7 (1), 15-35.

Khan, M.A., et al., The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from Nigella sativa seeds. Phytother Res, 2003. 17(2): p. 183-6.

Khanna, T., CNS and analgesic studies on *Nigella sativa*. *Fitoterapia*, 1993. 5: p. 407-410.

Khattab. MM. and M.N.Nagi. 2007. «Thymoquinone supplementation attenuates hypertension an Ramadan. M. 2007. «Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*Nigella sativa* L.): an overview» *Int J Food Sci Technol* , 42,1208-1218.d.

Kumara S S and Huat B T. 2001.Extraction, isolation and characterization of anti-tumor principle, alpha hederin from the seeds of *Nigella sativa*. *Planta Medica* 67: 29–32.

-L-

Lakhdar L., Hmamouchi M., Rida S., Ennibi O. Antibacterial activity of essential oils. Lambert, RJW, PN Skandamis, PJ Coote et GJE Nychas. 2001 . Une étude de la concentration minimale inhibitrice et du moded'action de l'huile essentielle d'origan, du thymol et du carvacrol. *Journal de Applied Microbiology* 91 (3): 453–62.

Lautenbacher LM (1997) *SchwarzkiimmelSI. Dtsch Apoth Ztg* 137:68-69.

Lavigne, J. P., Gaillard, J. B., Bourg, G., Tichit, C., Lecaillon, and E., Sotto A. (2008) Extended-spectrum β -lactamases-producing *Stenotrophomonas maltophilia* strains: CTXM enzymes detection and virulence study. *Pathol. Biol.*, 56: 447–453.

Le, P.M., et al., The petroleum ether extract of *Nigella sativa* exerts lipid-lowering and insulin-sensitizing actions in the rat. *J Ethnopharmacol*, 2004. 94(2-3): p. 251-9. Zaoui, A., et al., Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *J Ethnopharmacol*, 2002. 79(1): p. 23-6.

Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995) *Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien* , Doin Editeurs, Paris.

Leong, M. Rais Mustafa, K. Jaarin, *Nigella sativa* and its protective role in oxidative stress and hypertension, *Evid.-Based Complementary Altern.Med.* (2013) .

Leyral G et VIERLING E, 2001 *Hygiène et sécurité., alimentaires.* 3e éd. Paris: Doin; Bordeaux: CRDP.- 280p (Microbiologie et toxicologie des aliments).

Licata, M., Tuttolomondo, T., Dugo, G., Ruberto, G., Leto, C., Napoli, EM, Rando, R., Rita Fede, M., Virga, G., et Leone, R. (2015). Etude des variations quantitatives et qualitatives des huiles essentielles de Biotypes d'origan sicilien. *Journal of Essential Oil Research*, 27 (4), 293-306.

Liu H, Liu HY, Jiang YN, Li N (2016). Protective effect of thymoquinone improves cardiovascular function, and attenuates oxidative stress, inflammation and apoptosis by mediating the PI3K/Akt pathway in diabetic rats. *Molecular medicine reports*. 13.3: 2836-2842.

Livermore, D. M., Woodford, N. (2006).The beta-lactamase threat in Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter. *Trends Microbiol.*, 14: 413–420.

Liana-Ruiz-Cabello, M., Gutiérrez-Praena, D., Pichardo, S., Moreno, FJ, Bermúdez, JM et coll. (2014) Cytotoxicité et effets morphologiques induits par le carvacrol et le thymol sur la lignée cellulaire humaine Caco-2. *Food Chem. Toxicol.* 64, 281–290.

Lopez-Romero L C., González-Ríos H., Borges A and Simões M. (2015).Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Hindawi Publishing Corporation .Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2015, Article ID 795435, 9 pages.

- M -

Maier, I. I. Pepper, I. L. Pepper, et al .Environmental Microbiology.2nd edition chapter Academic Press, 1999.Lipopolysaccharide Peptidoglycane Acide.

Magyar, J., et al., Effects of terpenoid phenol derivatives on calcium current in canine and human ventricular cardiomyocytes. *Eur J Pharmacol*, 2004. 487(1-3): p. 29-36.

Mahfouz, M., Abdel Maguid, R. and El-Dakhakhny, M. (1960).Effectiveness of nigellone in asthma in adults. *Alexandria Medical Journal*, 6, pp. 543-547.

Mahgoub. A. 2003. «Thymoquinone protects against experimental colitis in rats.»*Toxicol Lett* , 143, 133-143.

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.

Majdalawieh, M.W. Fayyad, G.K. Nasrallah, Anti-cancer properties and mechanisms of action of thymoquinone, the major active ingredient of Nigella sativa, *Crit. Rev. Food Sci. Nut.* 57 (2017) 3911–3928.

Mancini, E., Senatore, F., Del Monte, D., De Martino, L., Grulova, D., Scognamiglio, M., Snoussi, M., et DeFeo, V. (2015). Études sur la composition chimique, les activités antimicrobiennes et antioxydantes de cinq Huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. *Molecules*, 20 (7), 12016-12028.

Mann C.M., Cox S.D. & Markham J.L., 2000.-The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, 30: 294-297.

Manter DK, Kelsey RG, Karchesy JJ (2007). Antimicrobial Activity of Extractable Conifer Heartwood Compounds Toward *Phytophthora ramorum*. *Journal of Chemical Ecology*. 33(11): 2133-2147.

Marc T.; Gerard W.; Denis L (2001).Classification des anti-inflammatoires in *Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème Edition.P 426.*

Mariod A.A., IBRAHIM R.M., ISMAIL M., ISMAIL N. Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*. 2009; 116: 306-312.

Marion millot (2019), Le thymol – Sources, propriétés et applications .Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie,université de Limoges.

Martin, G., Duez , H., Blanquart, C.V.B., Poulain, P., Fruchart J., et al .(2001). Statin-induced inhibition of the Rho-signaling pathway activates PPAR α and induces HDL apoA-I. *J Clin Invest* (107), 1423-1432.

Mathela, CS, Singh, KK et Gupta, VK (2010). Synthèse et activité antibactérienne in vitro du thymolectol et des dérivés du carvacrol. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 67 (4), 375-380.

Mazars G., 2003 .Les phytomédicaments ayurvédiques. *Phytothérapie*. 6: 162-168.

Meddah B., Ducroc R., Faouzi M.E., Eto B., Mahraoui L., Benhaddou-Andaloussi A., et al. *Nigella sativa* inhibits intestinal glucose absorption and improves glucose tolerance in rats. *Journal of Ethnopharmacology*.2009; 121: 419-424.

Mendes, S. S., Bomfim, R. R., Jesus, H. C., Alves, P. B., Blank, A. F., Estevam, C. S., et al. (2010). Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. *J. Ethnopharmacol.* 129, 391–397.

Merfort, I., Wray, V., Barakat, H., Hussein, S.A.M., Nawwar, M.A.M., Willuhn, G.(1997). Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochemistry*. 46: 359-363.

Meziti A. (2009). Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Etude in vitro et in vivo. Thèse de magistère. Département des sciences biologique. Université de ElHaj lekhder (Batna) Algérie 15-20p.

Michel FAUCON. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale (fondements & aide à la prescription). Sang de la Terre.Paris; 2015.880 .

Michiels, J., Missotten, J., Van Hoorick, A., Obyn, A., Fremaut, D., De Smet, S., Dierick, N., 2010.Effects of dose and formulation of carvacrol and thymol on bacteria and some functional traits of the gut in piglets after weaning. *Archives of animal nutrition* 64, 136–54.

Miller, J.M.T.,2004.-Antibiotic resistance from two perspectives: man and microbe" *International Journal of Antimicrobial Agents*. 23(3):209-212.

Moein, MR, Zomorodian, K., Pakshir, K., Yavari, F., Motamedi, M., et Zarshenas, MM (2015). *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague composition chimique de l'huile essentielle et activités antimicrobiennes des fractions respectives. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 20 (1),50-56.

Morikawa T., Xu F., Kashima Y., Matsuda H., Ninomiya K., Yoshikawa M. (2004a). Novel Dolabellane-Type Diterpene Alkaloids With Lipid Metabolism Promoting Activities From The Seeds Of *Nigella Sativa* L. *Organic Letters*; 6: 869-872.

Morikawa T., Xu F., Ninomiya K., Matsuda H., Yoshikawa M. Nigellamines A3, A4, A5 And C.(2004b).New Dolabellane-Type Diterpene Alkaloids, With Lipid Metabolism Promoting Activities From The Egyptian Medicinal Food Black Cumin. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin.*; 52: 494-497.

Moussaoui M. Les vertus médicinales de la graine de Nigelle. Paris : Sana;2013.

Muhammad T.Islam ,Abul BR Khalipha ,Rajat Bagchi ,Milon Mondal ,Shanita Z.Smrity,2018 ; Activité anticancéreuse du thymol: une littérature-Analyse basée et étude d'amarrage soulignéesur ses mécanismes anticancéreux.

Nabavi, SM, Marchese, A., Izadi, M., Curti, V., Daglia, M., et Nabavi, SF (2015). Plantes appartenant à l'genre *Thymus* comme agents antibactériens: De la ferme à la pharmacie. *Food Chemistry*, 173 , 339-347.

Nader, M.A., D.S. el-Agamy, and G.M. Suddek. 2010. Protective effects of propolis and thymoquinone on development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Arch Pharm Res.*, 33(4): p. 637-43.

Nadkarni K. (1976) *Crocus sativus*, *Nigella sativa*. In: Nadkarni KM editor. *Indian material*.

Nagi. M., K. Alam.,O. Badary.,O. Al-Shabanah., H. Al-Sawaf. et A. Albekairi ,1999.«Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism.» *Int J Biochem Mol Biol* , 47,153-159.

Nagle, PS, Pawar, YA, Sonawane, AE et Nikum, AP (2013). Thymol: synthèse, réactions et spectre d'applications pharmacologiques et chimiques. *Indo American Journal of Pharmaceutical Recherche*, 3 (9), 7549-7561.

Nagoor Meeran, M. F., Jagadeesh, G. S., and Selvaraj, P. (2015b). Thymol attenuates altered lipid metabolism in β adrenergic agonist induced myocardial infarcted rats by inhibiting tachycardia, altered electrocardiogram, apoptosis and cardiac hypertrophy. *J. Funct. Foods* 14, 51–62.

Nagoor Meeran, M. F., Jagadeesh, G. S., and Selvaraj, P. (2016a). Synthetic catecholamine triggers β 1-adrenergic receptor activation and stimulates cardiotoxicity via oxidative stress mediated apoptotic cell death in rats: abrogating action of thymol. *Chem. Biol. Interact.* 251, 17–25.

Nedorostova, L., P. Kloucek, Kokoska, L., Stolcova, M., Pulkrabek, J. (2009). Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control*, 20: 157–160.

Nergiz, C., Otles, S. (2003). Some Characteristics Of *Nigella* (*Nigella Sativa* L.) Seed Cultivated In Egypt And Its Lipid Profile. *Food Chemistry*, 83: 63-68.

Newman D.J, Cragg G.M & Snader K.M., 2003.- Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *Journal of Natural Product*, 66: 1022-1037.

Nickavar, B., Mojaba, F., Javidniab, K., Amolia, M.A.R. (2003). Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Journal of biosciences*. 58: 9-10.

Nicklin J., Graeme K-Cook., Paget RT., Killingtons R., 2000. *Essentiel en microbiologique*, Berti édition .paris. P : 3,75.

Nieddu, M., Rassu, G., Boatto, G., Bosi, P., Trevisi, P., Giunchedi, P., et al. (2014) Improvement of thymol properties by complexation with cyclodextrins: In vitro and in vivo studies. *Carbohydr. Polym.* 102, 393–399. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.10.084.

Nobrega De Almeida. R., M. Fatima Agra., F. Negromonte Souto Maior., & D. Pergentino De Sousa. 2011. «Essential Oils and Their Constituents: Anticonvulsant Activity.» *Molecules* , 16, 2726-2742.

Nostro, A., & Papalia, T. (2012). Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future prospectives. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 7(1), 28–35.

- O -

Orsi-Llinares F (2005) . La nigelle, une epice d'interet medicinal. Thèse de doctorat en pharmacie. Universite Joseph Fourier. Faculte de Pharmacie De Grenoble France 18 ,25 ;4-12p.

- P -

Pagola, S., Benavente, A., Raschi, A., Romano, E., Molina, M. A., & Stephens, P. W. (2004), crystal structure determination of thymoquinone by high-resolution X-ray powder diffraction. *AAPS PharmSciTech*, 5, e28.

Paolozzi.L et Liébart. L. (2015). *Microbiologie. Biologie Des Procaryotes Et De Leurs Virus*. Chapitre 18. Edition Dnoud. Paris. P (450, 451, 452, 458, 459,460).

Peixoto-Neves, D., et al., Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. *Fundam Clin Pharmacol*, 2010. 24(3): p. 341-50.

Poonam Negi ,Charul Rathore, Gajanand Sharma, Bhupinder Singh et Om P. Katare . La thymoquinone, une molécule thérapeutique potentielle de la plante *Nigella sativa*: Rôle des transporteurs colloïdaux dans sa prestation efficace ; 2018, 12, 3-22.

Proft T. and E. N. Baker. Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria-structure, assembly and their role in disease. *Cell.Mol. Life Sci.* 66, 2009, 613-35.

- R -

Rahal, J. J (2006). Novel antibiotic combinations against infections with almost completely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clinical infectious diseases*, 43(Supplement 2), S95-S99.

Rahmani, et al., Therapeutic implications of black seed and its constituent thymoquinone in the prevention of cancer through inactivation and activation of molecular pathways, *Evid.-Based Complementary Altern.Med.* (2014).

Ramadan M. F., Mörsel J.T. (2002). Direct Isocratic Normal-Phase Hplc Assay For Fat Soluble Vitamins And B-Carotene In Oil Seeds. *European Food Research And Technology*; 214: 521-527.

Ramadan M. F., Kroh L.W., Morsel T.J. Radical Scavenging Activity of Black Cumin (*Nigella sativa* L.), Coriander (*Coriandrum sativum* L.), and Niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) Crude Seed Oils and Oil Fractions. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51: 6961-6969.

Ramadan, M. F., Mörsel J.T. (2003). Analysis of glycolipids from black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) oil seeds. *Food Chemistry*. 80: 197-204.

Ramadan. M.F., J.T. Mörsel.2002a. «Characterization of phospholipid composition of black cumin (*Nigella sativa* L.)seed oil.» *Nahrung Food*. 46: 240-244.

Randhawa M-A 2008 Black seed *Nigella sativa* deserve more attention journal of ayoub med Coll Abottabad 20 2 1-2.

Rehman, M. Adnan, Nutritional potential of Pakistani medicinal plants and their contribution to human health in times of climate change and food insecurity, *Pak.J. Bot.* 50 (2018) 287–300.

- S -

Saad, A., Fadli, M., Bouazizb, M., Benharref, A., Mezrioui, E. N., Hassani, L. (2010), Anticandidal activity of the essential oils of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* and their synergism with amphotericin B and fluconazol. *Phyto Med.*, 17: 1057–1060.

Salem, M.L. (2005). Immunomodulatory And Therapeutic Properties Of The *Nigella Sativa* L. Seed. *International Immunopharmacology*. 5: 1749-1770.

Salem. M.L., M.S. Hossain. 2000. «Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection.» *International journal of immunopharmacology*. 22: 729-740.

Sankaranarayanan C, Pari L. Thymoquinone ameliorates chemical induced oxidative stress and beta-cell damage in experimental hyperglycemic rats. *Chem Biol Interact* 2011; 190: 148 – 154.

Sayed , M.D. (1980). *Traditional medicine in health care*. *J.Ethnopharmacol.* 2 (1): 19-22 saying of prophet Muhammad (Peace be upon him), 2nd ed Ankara, Turkey, Hilal Yayinlari.

Schneider -Stock R, Fakhoury IH, Zaki AM. Thymoquinone: Fifty years of success in the battle against cancer models. *Drug Discov Today* 2014; 19(1): 18-30.

Sener, B., Kusmenoglu, S., Mutlugil, A., & Bingol, F. (1985). A study with seed oil of *Nigella sativa*. *Gazi Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi* (2), pp.1-7.

Shabana A., El-Menyar A., Asim M., Al-Azzeh H., Al Thani H. Cardiovascular benefits of black cumin (*Nigella sativa*). *Cardiovascular Toxicol.* 2013; 13: 9-21.

Sharifi-Rad, M., Mnayer, D., Morais-Braga, M. F. B., Carneiro, J. N. P., Bezerra, C.F. Sharifi-Rad, J. (2018). Echinacea plants as antioxidant and antibacterial agents: From traditional medicine to biotechnological applications. *Phytotherapy Research*, 1–11.

Shinwari, M. Qaiser, Efforts on conservation and sustainable use of medicinal plants of Pakistan , *Pak. J. Bot.* 43 (2011) 5–10.

Shtayeh et al. MS Yagmourt rm faidi yr 1998 antimicrobial activity of 20 plants used in floconic medicinal in palastinian area 60.265 271.

Shuid A.N., Mohamed N., Mohamed I.N., Othman F., Suhaimi F., Mohd Ramli E.S. et al. *Nigella Sativa: a potential antiosteoporotic agent*. *Evid.Based Compl.Altern.Med.* 2012; 696230.

Sicker, D., Zeller, K.-P., Siehl, H.-U., Berger, S., 2019. *Natural Products: Isolation, Structure, elucidation, History*. Wiley-VCH.

Simon, JE, Quinn, J., et Murray, RG (1990). *Basilic: une source d'huiles essentielles*. *Progrès dans les nouvelles cultures* ,484-489.

Singh S.B & Barrett J.F, 2006.- Empirical antibacterial drug discovery foundation in natural products. *Biochemical Pharmacology*. 71: 1006-1015.

Soares, D. A. R., Ramos, E. M., Cardoso, D. G. M., Alves, E., Piccoli, R. H. (2011), antimicrobial activity of *Satureja Montana* L. essential oil *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *Int. J. Food Microbiol.*, 144: 546-555.

Soares, D. A. R., Ramos, E. M., Cardoso, D. G. M., Alves, E., Piccoli, R. H. (2011)., de Oliveira. Antimicrobial activity of *Satureja Montana* L. essential oil *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *Int. J. Food Microbiol.*, 144: 546-555.

Sultan M.T. Nutritional profile of indigenous cultivar of black cumin seeds and antioxidant potential of its fixed and essential oil. *Pakistan Journal of Botany*, vol. 41.2009; 3: 1321-1330.

- T -

Taha MM, Sheikh By, Salim LZ, Mohan S, Khan A, Kamalidehghan B, et al. (2016). Thymoquinone induces apoptosis and increase ROS in ovarian cancer cell line. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 62(6): 97-101.

Takruri H.R.H. (1998). Dameh M.A.F. Study of the Nutritional Value of Black Cumin Seeds (*Nigella Sativa* L.). *J.Sci.Food Agric*: 76 404-410.

Tekeoglu I, Dogan A, Ediz L, Budancamanak M, Demirel A (2007). Effects of thymoquinone (volatile oil of black cumin) on rheumatoid arthritis in rat models. *Phytotherapy research : PTR*. 21(9): 895-897.

Toparslan .C. 2012. À propos de *Nigella sativa* L. , Lorraine: Nancy. p. 136. Thèse d'Etat de Doctorat en Pharmacie. Université de Lorraine. 55

Trang NT, Wanner MJ, Phuong le VN, Koomen GJ, Dung NX (1993). Thymoquinone from *Eupatorium ayapana*. *Planta medica*. 59(1): 99.

Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., et al (2005). Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob. Agents Chemother*. 49, 2474–2478. doi: 10.1128/AAC.49.6.2474-2478.2005.

Tuter, M., Secundo, F., Riva, S., Aksoy, H. A., Ustun, G. (2003). Partial Purification Of Nigella Sativa L. Seed Lipase And Its Application. In Transesterification Reactions. Journal Of The American Oil Chemists' Society, 80: 43-48.

- U -

Umar S, Hedaya O, Singh AK, Ahmed S (2015). Thymoquinone inhibits TNF-alpha-induced inflammation and cell adhesion in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by ASK1 regulation. Toxicology and applied pharmacology. 287(3): 299-305.

Umar S, Zargan J, Umar K, Ahmad S, Katiyar C, Khan HA (2012). Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response by thymoquinone in the collagen induced arthritis in Wistar rats. Chemico-biological interactions. 197(1): 40-46.

- V -

Vahdati-Mashhadian, N., H. Rakhshandeh, and A. Omid, An investigation on LD50 and subacute hepatic toxicity of Nigella sativa seed extracts in mice. Pharmazie, 2005. 60(7): p. 544-7.

Vahdati-Mashhadian, N., Rakhshandeh, H., & Omid, A. (2005). An investigation on LD50 and subacute hepatic toxicity of Nigella sativa seed extracts in mice. Pharmazie , 60 (7), 544-547.

- W -

Warner, K.D., Chen, M.C., Song, W., Strack, R.L., Thorn, A., Jaffrey, S.R. and Ferre.

Wechsler, J. B., Hsu, C. L., and Bryce, P. J. (2014). IgE-mediated mast cell responses are inhibited by thymol-mediated, activation-induced cell death in skin inflammation. J. Allergy Clin. Immunol. 133, 1735–1743.

- X -

Xu, J., Zhou, F., Ji, B.-P., Pei, R.-S., Xu, N., 2008. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against Escherichia coli. Letters in applied microbiology 47, 174–9.

Xuan, N.T., Shumilina, E., Schmid, E., Bhavsar, S.K., Rexhepaj, R., Götz, F., Gulbins, E., Lang, F., 2010. Role of acidic sphingomyelinase in thymol-mediated dendritic cell death. Molecular nutrition & food research 54, 1833–41.

- Y -

Yala D, Merad A S, Mohamedi D and Ouar Korich M N (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghre, n° 91.

Yu, Y., Huang, R., Ye, J., Zhang, V., Wu, C., Cheng, G., Jia, J., Wang, L. (2016). Regulation of starvation-induced hyperactivity by insulin and glucagon signaling in adult *Drosophila*. *eLife* 5(): e15693.

- Z -

Zaghlol D., Kamel E., Mohammed D., Abbas N. The possible toxic effect of different doses of *Nigella sativa* oil on the histological structure of the liver and renal cortex of adult male albino rats. *Egypt J Histol.* 2012; 35(1): 127-136.

Zaoui, A., et al., Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine*, 2002. 9(1): p. 69-74.

Zeggwagh AA1, Lahlou Y, Bousliman Y. Survey of toxicological aspects of herbal medicine used by a herbalist in Fes, Morocco. *Pan Afr Med J.* 2013;14:125.

Zubair H, Khan HY, Sohail A, Azim S, Ullah MF, Ahmad A, et al. (2013). Redox cycling of endogenous copper by thymoquinone leads to ROS-mediated DNA breakage and consequent cell death: putative anticancer mechanism of antioxidants. *Cell Death Dis.* 4: e660.

Zuo, X., H. Xie, D. Dong, N. Jiang, H. Zhu et YJ Kang. 2010 .La cytochrome c oxydase est essentielle pour la régression induite par le cuivre hypertrophie des cardiomyocytes. *Toxicologie cardiovasculaire* 10 (3):208–15.

Année universitaire :

2019/2020

Présenté par :

KARA Cheima nada rihane

BOURSAS Djoumana

Etude théorique des effets biologiques de molécules bioactives extraites de la plante *Nigella sativa*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé

Les bactéries sont très abondantes dans l'environnement et chaque jour le risque d'être contaminé augmente spécialement lorsque les concentrations de certaines espèces bactériennes deviennent anormalement élevées. Aussi la résistance de ces bactéries aux antibiotiques est devenue une véritable préoccupation. De ce fait, la recherche de nouveaux agents d'origines naturelles, présentant moins de danger pour la santé et palliant aux effets secondaires des antibiotiques, tels: « les huiles essentielles », est devenue une nécessité.

Dans la médecine traditionnelle, les plantes aromatiques constituent une source immense de molécules bioactives, dotées de nombreuses activités. Notre objectif est de démontrer l'efficacité antimicrobienne de *N.sativa* et leur biomolécules (thymol et thymoquinone) à partir des résultats des travaux déjà effectués sur différentes espèces bactériennes du Gram positive telle que *S.aureus* et de Gram négatif comme *E. coli*.

A partir des résultats de recherches cités dans ce travail, on peut proposer l'huile de *N.sativa* et leur biomolécules thymol et thymoquinone comme agents antimicrobiens puissants contre différentes pathologies

Mots-clés : *Nigella sativa*, thymoquinone, thymol, activité antibactérienne, activités biologiques

Jury d'évaluation :

MAAMERI Zineb

MC.A- UFM Constantine

Président

MOSBAH Asma

MC.A- UFM Constantine

Rapporteur

MADI Aicha

MC.B- UFM Constantine

Examinatrice