

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB – Blida
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de
Master en biologie
Option : Phytothérapie et Santé

Thème

Extraction de l'huile essentielle et caractérisation
phytochimique de l'extrait aqueux des graines de la nigelle
(*Nigella sativa* L.) et étude de leurs activités biologiques

Présentée par

- ❖ M^{elle} GUERNOU Ilhem
- ❖ M^{elle} BOUHEDIR Samah

Date de soutenance

03/10/2013

Membre du jury :

M ^{me} KEBBAS S.	M.A.A	USDB	Présidente
M ^{elle} AMEDJKOUH H.	M.A.A	USDB	Examinatrice
M ^{me} RADIN.	M.A.A	USDB	Examinatrice
M ^{me} Ait SAADIN.	M.A.A	USDB	Promotrice

Promotion : 2012/2013

Remerciements

Nous remercions notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donnés pour mener ce travail à terme.

Nous commençons par exprimer nos profondes reconnaissances et nos vifs remerciements à Mme Ait SAADI N. qui nous a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. Merci de nous avoir guidé avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit ; on ne peut, Madame, que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.

On tient à remercier Mme KEBBAS S. d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses.

On tient à remercier M^{elle} Amedjkouh H., d'avoir accepté de faire partie des membres du jury de notre travail. On tient à vous remercier pour tout ce que vous nous avez apporté tout au long de nos études.

Nous exprimons nos profonds remerciements à Mme RADI N. d'avoir accepté de juger ce modeste travail, trouvez ici toutes nos expressions respectueuses.

On tient à exprimer nos très grandes considérations, et notre profond respect à Mr Ait SAADI pour son aide.

Nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

C'est avec une énorme joie et un infini plaisir, que je dédie ce modeste travail :

*Aux deux plus chères personnes de ma vie, pour leur soutien, leurs encouragements
leurs affections et leurs judicieux conciles qui m'ont soutenu tout au long de mes
années d'instruction, **Mes parents** que dieu les garde pour moi*

Mes deux très chers frères : Abdelhakim et Sofien

À mes oncles, cousins et cousines. Qui ont de près ou de loin contribué à ma formation.

Affectueuse reconnaissance.

A mes chères cousines et mes sœur Marwa, Amina, Fadia et Safia pour leurs présence à mes côté.

À toute ma famille maternelle et paternelle.

À ma binôme Samah et toute sa famille

À mon chère ami Rafik

À mes chères amis et mes sœurs : Farida, Sarah, Imene, Khadidja.

*À toutes mes collègues :, Nesrine, Keltoum, Amina, Meriem, Samia, Nadia et Arbia
pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.*

À toute ma promotion 2012/2013 « phytothérapie et santé » sans exception.

À toutes les personnes que je n'ai pas citées mais que je porte dans mon cœur.

Ilhem. G

Liste des abréviations

AFNOR : Association française de normalisation

ATCC: American Type Culture Collection.

C° : Degré Celsius

CG-MS : Chromatographie gazeuse couplée a une spectrométrie de masse

EA: extrait aqueux

h: heure.

HE : huile essentielle

min: minute.

N. sativa: Nigella sativa.

N.s: Nigella sativa

PP: pellagra proteine (vitamine).

RHE : Rendement en huile essentielle

Réf: référence.

T : Temps.

Liste des figures

<i>Figure</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Figure 1	Dessin représentant la plante entière	11
Figure 2	la fleur de <i>nigella sativa</i>	12
Figure 3	La capsule de <i>nigella sativa</i>	12
Figure 4	La graine de <i>nigella sativa</i>	12
Figure 5	la distribution de <i>nigella sativa</i>	13
Figure 6	Structure chimique de trois flavonoïdes isolés de <i>N.S</i>	14
Figure 7	Structure chimique des principaux alcaloïdes de <i>N.S</i>	15
Figure 8	la poudre de la nigelle	20
Figure 9	L'extrait aqueux des graines de la nigelle	20
Figure 10	Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger	22
Figure 11	schéma illustrant la méthode d'aromatogramme	24
Figure 12	préparation de l'inoculum	25
Figure 13	protocole expérimentale du test hypoglycémiant	26
Figure 14	protocole expérimental du test anti –inflammatoire	29
Figure 15	Effet inhibiteur de l'huile essentielle des graines de la nigelle sur les souches bactériennes testées	35
Figure 16	Résultats de l'activité hypoglycémiant de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de la nigelle	36
Figure 17	pourcentages de l'augmentation de l'œdème des pattes des souris en fonction de temps	39
Figure 18	Pourcentage de réduction de l'œdème des pattes des souris en fonction de temps	40

Liste des tableaux

<i>N° de tableau</i>	<i>titre</i>	<i>Page</i>
Tableau 1	les caractéristiques des souches microbiennes utilisées	18
Tableau 2	Répartition des lots des lapins et les doses de traitement administre	28
Tableau 3	Représentation des résultats de tests phytochimiques	32
Tableau 4	propriétés organoleptique de l'extrait aqueux et l'huile essentielle	33
Tableau 5	résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de la nigelle	34
Tableau 6	Evolution de la glycémie moyenne (mg/dl) chez les lapins	36
Tableau 8	Les épaisseurs moyennes des pattes gauches des souris	38
Tableau 9	le pourcentage de l'augmentation de l'œdème de pattes postérieures gauches des souris	38
Tableau 10	pourcentage de réduction de l'œdème des pattes postérieures gauches des souris	39
Tableau 11	Résultats de teste de Correlations de l'activité anti-inflammatoire (SPSS)	Annexe III
Tableau 12	les moyennes de corrélation	Annexe III

Glossaire

Antifongique : substance qui tue les champignons ou les levures pathogène ou qui inhibe leurs croissances.

Anti-inflammation : Substance qui diminuer l'irritation, la plupart des anti-inflammatoire sont aussi des antidouleur

Antioxydant : compose agissant à faible concentration comme inhibiteur de l'action de l'oxygène ou des radicaux oxygénés.

Antispasmodique : qui aide pour faire cesser les spasmes ou les contractions des muscles.

Antivirale : substance qui agit contre les virus.

Aromathérapie : est défini comme l'utilisation des huiles essentielles des plantes pour traiter les maladies.

Aromatique : substance dont le gout est prononcée car il y a des huiles.

Hyperglycémie : glycémie trop élevée (taux du sucre dans le sang).

Hypoglycémie : diminution de la concentration de glucose dans le sang.

Inflammation : réaction localisée d'un tissu, consécutive à une agression. Une inflammation se manifeste par quatre signes principaux : rougeur, chaleur, douleur, tuméfaction (gonflement).

Insecticides : Tue un certain nombre d'insectes. Généralement, les principes insecticides sont contenus dans les essences volatiles.

Œdème : Accumulation anormale de liquide séreux dans les espaces intercellulaire du tissu conjonctif.

Principe actif: molécule qui dans un médicament possède un effet thérapeutique. Cette substance est, la plupart du temps, en très faible proportion dans le médicament par rapport aux excipients. De nombreuses molécules ont une activité biologique, parfois bénéfique. Afin de tester leur efficacité et en faire un principe actif, on effectue des tests d'abord théorique et ensuite sur l'homme lors d'études cliniques.

(La rousses médicale 2003)

Résumé

Notre travail porte sur l'extraction de l'huile essentielle et la caractérisation de l'extrait aqueux des graines de nigelle *Nigella sativa* et l'étude de leurs activités biologiques notamment antimicrobiennes, hypoglycémiantes et anti-inflammatoire.

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation, le rendement a été de 0.5%.

L'étude phytochimique de l'extrait aqueux des graines de la nigelle montre que ces derniers sont constitués de plusieurs métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les alcaloïdes et les glucosides.

Nous avons tenté d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de la nigelle vis-à-vis six souches bactériennes de références par la méthode de diffusion des disques. Les résultats obtenus montre que l'huile essentielle possède un pouvoir antibactérien très intéressant sur *Staphylococcus aureus* (toute la surface), *Bacillus subtilus* (32 mm) et *E.coli* (19 mm). Concernant l'extrait aqueux, il a manifesté un pouvoir modérément inhibiteur par rapport à l'huile essentielle sur les mêmes souches. Alors qu'aucune activité n'a été signalée sur les souches *staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonase aeruginosa* et *klebsiella pneumoniae* pour l'ensemble des extraits testés.

L'effet hypoglycémique de *Nigella sativa* a été confirmé sur des lapins rendus hyperglycémiques par voie orale par surcharge de glucose (2 ml /kg de lapin) auquel l'administration, par gavage de l'huile essentielle et l'extrait aqueux (1 ml /kg), ont permis de constater après l'étude cinétique de la glycémie entre T_0 et T_{120} minutes par dosage au glucomètre une réduction du taux de glucose sanguin.

Notre étude avait pour but aussi d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des graines de nigelle. Les expériences ont été réalisées sur les pattes gauches des souris en mesurant l'épaisseur des œdèmes induit par la carraghénine à 1%. Nous avons remarqué que l'huile essentielle et l'extrait aqueux de *Nigella sativa* ont marqué une bonne efficacité de réduction des œdèmes avec un taux de réduction de 7.40%.

Mots clé : *Nigella sativa*, huile essentielle, antimicrobienne, hypoglycémiant, anti-inflammatoire, extrait aqueux, tests phytochimiques.

Summary

Our work focuses on the extraction of essential oil and characterization of the aqueous extract of nigella seeds *Nigella sativa* and the study of their biological activities including antimicrobials, hypoglycemic and anti-inflammatory.

The extraction of essential oil was produced by steam distillation, the yield was 0.5 %.

The phytochemical study of the aqueous extract of nigella seeds, it also enabled us to highlight some secondary metabolites such as glucosides, the tannins, the flavonoids, the anthocyanins and saponosides.

We tried to evaluate the antimicrobial activity of the essential oil and aqueous extract of nigella vis-à-vis six bacterial reference strains by disk diffusion method. The results showed that the essential oil has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* very interesting in the entire area, *Bacillus subtilis* (32 mm) and *E. coli* (19 mm) . Concerning aqueous extract, it showed an average power compared to the essential oil of the same strains. While no activity was reported on epidermidis strains, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* for all extracts tested.

The hypoglycemic effect of *Nigella sativa* has been confirmed on rabbits rendered hyperglycemic oral overload of glucose (2 ml / kg rabbit) which the administration by gavage of the essential oil and aqueous extract (1 ml / kg), revealed after the kinetic study of glucose between T0 and T120 minutes dosing meter reduction in blood glucose.

Our study was designed to evaluate the anti-inflammatory activity of black seeds; experiments were performed on the left legs of mice by measuring the thickness of edema induced by carrageenan 1%. We noticed that the essential oil and aqueous extract of *Nigella sativa* have marked a good effectiveness in reducing edema .

Keywords: *Nigella sativa*, essential oil, phytochemical study, antimicrobial, hypoglycemic, anti-inflammatory, aqueous extract.

ملخص

تحاول هذه الدراسة تسليط الضوء على استخراج الزيوت الاساسية و توصيف المستخلص المائي لبذور *Nigella sativa* و دراسة بعض الانشطة البيولوجية بما فيها المضاد للميكروبات و المضاد لداء السكري و كذلك المضاد للالتهاب.

استخراج الزيوت الاساسية عن طريق الهيدروديستيليا, فكان المرودود 0.5 %.

دراسة الفيتو كيميائية للمستخلص المائي للبذور *Nigelle* بين على أنها تتكون من عدة المركبات الثانوية مثل الفلافونويد , التانان , السابونوزيدات , والالكالويدات وجليكوسيدات.

حاولنا تقييم نشاط المضادات للمكروبات للزيت الاساسي و المستخلص المائي لـ *Nigelle* لسنة من السلالات البكتيرية باستعمال اسلوب الانتشار على الجيلوز المغذي, النتائج المحصل عليها اثبتت ان الزيت الاساسي يتميز مضاد للبكتريا هامة بالخصوص على المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* (كل الواجهة) , سلالة المكورات *Bacillus Subtillus* بـ (32مم) و *E.coli* بـ (19 مم). فيما يخص المستخلص المائي, فقد اظهر قوة متوسطة مقارنة مع الزيت الاساسي على نفس السلالات البكتيرية. في حين لم يسجل اي نشاط على سلالات *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonase aeruginosa* و *klebsiella pneumoniae* لجميع المستخلصات المختبرة.

و قد تم تاكيد تاثير *Nigelle* على نسبة السكر في الدم عند الارانب المصابة عمدا بداء السكري و ذلك باستهلاك كمية جد متفاوتة من الجلوكوز (2ملل/كغ), تناول الزيت الاساسي و المستخلص المائي (1ملل/كغ) عن طريق الفم. كشف بعد الدراسة الحركية للجلوكوز بين 0 و 120 دقيقة بواسطة جهاز قياس نسبة الدم, انه تم انخفاض لتركيز الجلوكوز في الدم.

تهدف دراستنا ايضا لتقييم النشاط المضاد للالتهاب من بذور *Nigella sativa* , التجارب اجريت على الكف الايسر للفئران عن طريق قياس سمك الالتهاب الناتج عن حقن الكاراجينين 1% , لاحظنا ان الزيت الاساسي و المستخلص المائي لـ *Nigella sativa* انهما قاما بتخفيض بنسبة كبيرة من الالتهاب.

الكلمات الاساسية : الزيت الاساسي, المستخلص المائي , المضاد للميكروبات, المضاد لداء السكري, المضاد للالتهاب, الفيتو كيميائية.

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur les plantes médicinales.....	3
I.1.1 Intérêt des plantes médicinales en Algérie.....	3
I.1.2. Principes actifs des plantes médicinales.....	3
I.1.3 Formes de préparation des plantes médicinales	4
I.2 Généralité sur les huiles essentielles.....	5
I.2.1Définition.....	5
I.2.2 Localisation	6
I.2.3 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	6
I.2.4 Composition chimique des huiles essentielles.....	7
I.2.5 Conservation des huiles essentielles	7
I.2.6 Les propriétés thérapeutiques et domaines d'utilisation des huiles essentielle.....	7
I.2.7 Mode d'utilisation des huiles essentielles.....	8
I.2.8La toxicité des huiles essentielles.....	8
I.3 Généralité sur la plante « <i>Nigella sativa</i> L.»	9
I.3.4 Description de la plante « <i>Nigella sativa</i> »	11
I.3.5 La distribution géographique de la nigelle	12
I.3.6 Culture de la nigelle	13
I.3.7 Composition chimique	13
I.3.8 Propriétés thérapeutiques de <i>Nigella sativa</i>	16

Chapitre II : Matériel et Méthode

II.1 Matériel :	
II.1.1Matériel biologique	18
II.1.2. Matériel non biologique.....	19
II.2 Méthodes expérimentale :	
II.2.1 Préparation de la poudre.....	19
II.2.2 Préparation de l'infusé (Extrait aqueux) à 10%	20

II.2.3 Etude phytochimique (Screening chimiques) de certains métabolites secondaires de la poudre de <i>Nigella sativa</i> L.....	20
II.2.4 Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	22
II.2.5 Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux	23
II.2.6 Les activités pharmacologiques de l'huile essentielle et l'extrait aqueux.....	24
II.2.6.1 Evaluation de l'activité antimicrobienne	24
II.2.6.2 Evaluation de l'activité hypoglycémiante	25
II.2.6.3 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	29

Chapitre III : Résultats et interprétations

III.1 Résultats de l'étude phytochimique.....	32
III.3 Examen organoleptique	33
III.4 Résultats des tests biologiques	33
III.4.1 L'activité antimicrobienne.....	33
III.4.2 L'activité hypoglycémiante	36
III.4.3 L'activité anti inflammatoire	38
Discussion	43
Conclusion	47

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Depuis la nuit des temps les hommes ont su développer les extraordinaires vertus médicinales que recèlent les plantes, dont la connaissance et l'utilisation thérapeutique basée sur l'analyse et l'observation s'appellent la phytothérapie (Dellile, 2007).

Les vertus thérapeutiques des plantes ont été expérimentées depuis lors et leurs précieuses caractéristiques se sont transmises oralement de génération en génération ou consignées dans les vieux écrits. Les remèdes de bonne réputation ont prévalu malgré le développement de la médecine moderne qui est venue marginaliser le recours aux techniques médicales naturelles (Tchamdja, 1995).

En Algérie la phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le secteur de la médecine traditionnelle. Les pharmacopées régionales s'inspirent principalement de la médecine Arabe classique et de l'expérience locale des populations en matière de soins. Ces dernières années, beaucoup de recherches se sont orientées vers la valorisation de la médecine traditionnelle en vue de vérifier la sûreté et l'efficacité des plantes utilisées et d'établir des règles scientifiques pour l'usage de ces plantes (Tchamdja, 1995).

D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (Damintoti et al., 2005). Elles ont constitué la source majeure des médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolite secondaire (Fouché et al., 2000).

Les plantes avec leur nombre illimité, constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques (Teuscher et al., 2005)

Parmi les plantes médicinales les plus utilisées et qui ont suscité un grand intérêt pour les pays méditerranéens et asiatiques, on trouve *Nigella sativa* L.

La graine de nigelle (*Nigella sativa* L.) connue depuis l'Antiquité fut cultivée par les Egyptiens, les Arabes, et les Indiens. Elle a été introduite par la suite dans plusieurs pays d'Europe et d'Afrique. Les graines de nigelle produites à l'échelle mondiale principalement par l'Inde et le Pakistan constituent une source importante d'huile végétale utilisée dans le domaine pharmaceutique et médicinal (Abidi, 2002).

Le Prophète Mohamed (QSSL) a incité les croyants à son utilisation en insistant sur les bienfaits de cette graine en tant que traitement médicinal "contre tous les maux", ce qui a constitué une tradition pour le monde musulman en se référant à cette graine et à son huile pour guérir un bon nombre de maladies, de blessures, de brûlures et pour pallier à certains problèmes d'allaitement et d'anémie (Aboul-Ela, 2002).

C'est dans ce contexte que notre travail a été orienté dont l'objectif de l'extraction de l'huile essentielle de l'espèce *Nigella sativa*, obtenu par hydrodistillation de type Clevenger, ainsi que l'évaluation de l'activité antimicrobienne, hypoglycémiante et anti-inflammatoire de cette huile essentielle.

Chapitre I :
synthèse
bibliographique

I.1 Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans son rite religieux. L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaire des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, indienne et du proche-orient. Elle est devenue certainement un art au fil des siècles, la thérapeutique par les plantes s'est dissociée des pratiques magiques pour devenir empirique puis scientifique. Cela était évident au début du 19^{ème} siècle qui marque la découverte des alcaloïdes (la morphine, la strychnine, la quinine...). Dans les pays industrialisés, les recherches dans le domaine des plantes médicinales durant les dernières décennies. Néanmoins les substances actives isolées constituent environ 25 % des préparations médicamenteuses **(Benkiki, 2006)**.

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, Saharienne et une flore Paléo Tropicale, estime à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèce endémique. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Les objectifs fixés sont l'inventaire ainsi que l'évaluation chimique et pharmaceutique des plantes médicinales algériennes dans le double but de valoriser et de rationaliser leur usage traditionnel et d'isoler des composés d'intérêt thérapeutique potentiel **(Benkiki, 2006)**.

I.1.1. Intérêt des plantes médicinales en Algérie

Depuis des siècles, en Algérie comme dans tous les pays du Maghreb, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées surtout dans les milieux ruraux par des personnes âgées qui connaissent encore certaines recettes de tisanes **(Quezel et Santa, 1963)**.

Dans le Hoggar, et en l'absence de médecine, dans certaines contrées isolées, les Touaregs se soignent avec les plantes médicinales et aromatiques dont ils connaissent le secret transmis de père en fils **(Quezel et Santa, 1963)**.

De même, en Kabylie lorsqu'il y a de la neige et que les routes sont coupées, les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatiques pour se soigner. Comparé à d'autres pays africains, notre pays a très peu de tradi-praticiens reconnus et d'herboristes agréés **(Quezel et Santa, 1963)**

I.1.2 Principes actifs des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie; elles présentent en effet, des avantages dont les médicaments sont dépourvus **(Ticli, 1997)**, et parmi ces principes actifs on cite :

a. Flavonoïdes

Ils sont présents dans la plupart des plantes, ce sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres à colorer les fleurs et les fruits en jaune et en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales, antioxydant, ont également des propriétés anti-inflammatoires et antivirales...etc **(Iserin, 2001)**.

b. Tanins

Les tanins sont des substances constituées par un mélange de glucosides et d'acide gallique. On les rencontre, en petite quantité, dans de très nombreuses plantes (**Verdrager, 1978**). Elles sont dotées de propriétés astringentes, cytostatiques et bactéricides (**Ticli, 1997**).

c. Alcaloïdes

Ce sont des substances azotées produites dans les plantes dont l'action sur l'homme et les animaux est extraordinaire. Quelques milligrammes peuvent suffire pour provoquer de graves intoxications. En revanche, lorsqu'elles sont bien dosées, elles deviennent des médicaments tout aussi puissants (**Ticli, 1997**).

d. Phénols

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales (**Iserin, 2001**).

e. Anthocyanes

Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanides (flavonoïdes proches des flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge ou pourpre. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres (**Ticli, 1997**).

f. Les huiles essentielles

Ce sont des produits odorants de composition chimique complexe renferment des principes actifs volatiles et contenus dans les végétaux (**Cherpentier et al., 2008**).

I.1.3 Formes de préparation des plantes médicinales

Le succès d'un traitement par les plantes médicinales dépend en bonne partie de leur préparation (**Fluck, 1977**). Voici quelques préparations simples, laissant de côté les préparations complexes qui nécessitent des appareils spéciaux ou un sérieux tour de main : l'infusion, la macération, la décoction, l'extrait, la teinture, le sirop, la poudre, les crèmes (**Lais, 2001**). Parmi ces formes de préparations ; on s'intéresse à la poudre.

I.1.3.1 La poudre

a. Définition

Les plantes séchées à l'ombre sont finement coupées puis pulvérisées dans un mortier. Ces plantes simples ou en mélange sont vendues en sachets (infusettes) pour faire des tisanes. Certains malades prennent la poudre de la plante directement sur la langue ou la mélangent à leurs aliments (**Schauenberg et Ferdinand, 2004**).

Les poudres végétales sont des préparations dans lesquelles les drogues végétales sont amenées à un degré de division suffisant pour assurer leur homogénéité et pour faciliter leurs administrations (**Harlay, 2004**).

b. Intérêt

Les poudres végétales apportent une grande souplesse à l'utilisation thérapeutique des plantes, permettant leur incorporation facile à toutes les formes galéniques sèches (gélules, cachet) (**Duraffourd et Lapraz, 2002**).

c. Avantages

Selon **Duraffourd et Lapraz (2002)**, les avantages des poudres végétales sont :

- L'administration de la drogue relativement aisée.
- La manipulation simplifiée (possibilité de faire des mélanges, répartition volumétrique simplifiée).

d. Conservation

Généralement la conservation des poudres végétales se fait dans des bocaux fermés, à l'abri de la lumière (**Duraffourd et Lapraz, 2002**).

I.2. Généralité sur les huiles essentielles

L'étude des huiles essentielles est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et les développements exponentiels des biotechnologies végétales. L'histoire de l'aromathérapie naquit qu'avec les progrès de la science, de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques ont permis de faire des plantes aromatiques et médicinales (PAM) d'authentiques médicaments (**Bruneton, 1999**).

1.2.1 Définition

Le terme « huile », souligne le caractère visqueux hydrophobe de ces substances, le terme « essentielle » est lié aux caractéristiques principales de la plante à travers ses exhalations (**Abrassat, 1988**). Il s'agit de mélange de composés lipophiles, volatiles et souvent liquides synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés (**Teuscher et al., 2005**).

Les huiles essentielles sont des substances olfactives (**Guignard, 1996**), responsables de l'odeur caractéristiques des plantes (**Teuscher et al., 2005**) qui sont appelées pour cette raison « aromatiques » et couramment « plantes à essences » (**Saidj, 2007**).

D'après **Valnet, (1970)**, on peut retirer les huiles essentielles des végétaux, soit par distillation à la vapeur d'eau, soit par expression, soit par incision du végétal, soit encore par enfleurage...

I.2.2. Localisation

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles se fait dans des structures histologiques sécrétrices spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante ou dans les tissus végétaux. (**Bruneton, 1999, Price et al., 1999**)

La synthèse des huiles essentielles se fait dans

- ❖ Des cellules sécrétrices isolées (cas des Lauraceae)
- ❖ Poils sécréteurs des Lamiaceae
- ❖ Les poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae
- ❖ Les canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae

I.2.3 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les essences produites par les différentes espèces de plantes, varient dans leurs caractéristiques physico-chimiques selon certains facteurs ex : les régions et les climats, l'époque et le moyen de la récolte (**Salle, 1991**) :

- ❖ A température ambiante, elles sont liquides alors qu'elles sont volatiles, à température élevées, c'est leur volatilité qui les distingue des huiles fixes telle que l'huile d'olives.
- ❖ L'indice de réfraction est généralement élevé et la plus part dévient la lumière polarisée (**Bruneton, 1999**).
- ❖ Elles sont très solubles dans les solvants organiques (alcool, éther).
- ❖ Pouvoir intense de diffusion et de pénétration.
- ❖ Elles sont très peu solubles dans l'eau.
- ❖ Elles ont une densité inférieure à celle de l'eau ($d < 1$), (les huiles essentielles de girofle ou de cannelle, constituent des exceptions) (**Desmares et al., 2008**)

I.2.4 Composition chimique des huiles essentielles

Une huile essentielle peut contenir de 20 à 60 éléments biochimiques différents. On peut déterminer sa composition par la chromatographie en phase gazeuse.

Les principales composantes sont : les terpènes et terpénoïdes et les constituants aromatiques (**Bakkali et al., 2008**).

a. les terpénoïdes : qui est représenté par :

- ❖ **Monoterpènes et dérivés** : des carbures monoterpéniques, acycliques ou cycliques, des aldéhydes et des alcools monoterpéniques, des cétones et des époxydes monoterpéniques.

- ❖ **Les sesquiterpéniques et leurs dérivés** : des hydrocarbures sesquiterpéniques, des alcools, de cétones et des époxydes sesquiterpéniques (**Bakkali et al., 2008**).

b. Les composés aromatiques

Ce sont des dérivés du phenylpropane, ils comprennent (**Bakkali et al., 2008**) :

- ❖ Les Aldéhydes : cinnamaldéhyde
- ❖ Les Alcool : alcool cinnamique.
- ❖ Les phénols : eugénol.
- ❖ Les dérivés Mothoxy : anethole, estragole, Methyleugenols.
- ❖ Les composés dioxyméthylène : apiole, myristicine

I.2.5 Conservation des huiles essentielles

Elles se présentent et se conservent dans des flacons de verre fumé, fermés par un bouchon bien hermétique, ce qui les préserve de la lumière et de l'air pour éviter leur oxydation (à l'air) et leur polymérisation (à la lumière). Elles se conservent à une température ambiante varie entre 3 C° et 4 C°. Les huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois après leur fabrication. Avec le temps leurs propriétés diminuent et deviennent alors inactives (**Salle, 1991**).

I.2.6 Les propriétés thérapeutiques et domaines d'utilisation des huiles essentielles

Selon **Hammer et al., (1999)**, la richesse des huiles essentielles en composés biologiquement actifs leur permet de être quasiment utilisées dans tous les domaines.

Les H.E. possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques tel que : antibactérienne (**Hammer et al., 1999**), antifongique, antioxydant (**Kordali et al., 2005**) et insecticides (**Yang et al., 2005**).

Grâce à leurs pouvoirs curatifs : Spasmodique (**Gilani et al., 2009**), antispasmodique (**Gilani et al., 2008**), anticancer (**Sylvestre et al ; 2006**), anti-inflammatoire, anti-ulcère (**Dordevic et al., 2007**), antivirale (**Schnitzler et al., 2007**)...etc., les huiles essentielles sont utilisées pour le traitement ou la prévention contre la plus part des maladies de l'homme.

Elles sont actuellement employées comme arômes alimentaires et peuvent servir en même temps comme agents de conservation des aliments grâce à leur effet antimicrobien, et ce d'autant plus qu'elles sont reconnues comme saines (**Gaillet et Lacroix, 2007**). Les huiles essentielles peuvent être utilisées comme additifs alimentaires (**Daba et al., 2008**).

Selon **Alessandra et Buronzo, (2008)**, les huiles essentielles aussi sont largement utilisées dans la fabrication des produits cosmétiques tel que les parfums, savons, lotions et pommade de soins....etc.

I.2.7 Mode d'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent s'utiliser par différents voies (**Willem, 2004**).

a. En usage interne

- ❖ Par voie orale (ou buccale), les H.E ne doivent pas être utilisées pures car elles peuvent provoquer des brûlures digestives.
- ❖ Par voie rectale sous forme de suppositoires
- ❖ Par voie vaginale sous forme d'ovules.

b. En usage externe

- ❖ La voie cutanée est la voie la plus fréquemment utilisée car c'est la moins toxique et elle permet une pénétration facile et rapide des H.E à travers la peau puis la circulation générale arrivant aux organes où elles vont exercer leur activité
- ❖ L'H.E peut également être prise par inhalation par ajout de quelques gouttes d'huile essentielle dans un bol d'eau chaude et de respirer les vapeurs ou en déposant quelques gouttes sur un mouchoir propre que l'on respirera.

I.2.8 La toxicité des huiles essentielles

Plusieurs expérimentations ont été menées en vue d'évaluer le risque que représente l'emploi des H.E, cependant on trouve mentionnées :

a. La toxicité par ingestion

Les Huiles Essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée de la plante aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quel que soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée.

Selon **Teuscher et al., (2005)**, L'huile essentielle peut entraîner l'irritation ou même ulcération des tissus ; au niveau des muqueuses digestives. Le produit naturel pur ingéré par voie buccal peut donc se révéler comme un agent d'agression.

b. La toxicité dermique

Les larges usages que font la parfumerie et la cosmétique de ces huiles essentielles, a suscité de nombreux travaux sur leur éventuelle toxicité par application locale (**Bruneton ,1999**).

I.3. Généralité sur la plante « *Nigella sativa* L.»

La nigelle est traditionnellement connue dans les pays du Moyen Orient grâce à ses puissantes qualités de guérison pour de nombreuses affections. Elle a été utilisée depuis des milliers d'années au Moyen-Orient ainsi que des ports d'Afrique et d'Asie et est désormais bien connue dans le monde entier (Anonyme, 2009).

I.3.1 Historique

La nigelle est connue depuis l'antiquité. Les Egyptiens en faisaient usage (ses graines ont été découvertes dans la tombe de Tout Ankh Amon). Le médecin grec Dioscorides, la préconisait contre les céphalées, les douleurs dentaire et abdominales et pour combattre l'écoulement nasal (Baba Aissa, 2011).

Les Romains qui avaient connaissances de la nigelle, ou « coriandre grecque » la considéraient comme complément alimentaire (Ghedira, 2006).

Chez les Grecs anciens (Hippocrate et Galien), la nigelle était considérée comme un remède précieux dans les traitements des affections hépatiques et digestives (Ghedira, 2006).

Dans la bible, *Nigella sativa* est identifiée comme étant « le cumin noir curatif ». Par ailleurs, et pour l'école arabe de médecine, notamment pour Avicenne, auteur de canon de la médecine, *Nigella sativa* est un stimulant de l'énergie de l'organisme et aide à la récupération en cas de fatigue ou d'abattement.

Boukhari, auteur d'Al-tibb al-nabawi cite le prophète (QSSL) « soignez-vous en utilisant la graine de nigelle c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort » (Ghedira, 2006).

I.3.2 Étymologie et nom vernaculaires

Selon Couplan (2006), le terme *nigelle* est emprunté au bas latin *nigella*, féminin substantivé du latin *nigellus* « noirâtre », dérivé diminutif de *niger* « noir », d'après la couleur des graines. Le nom d'espèce *sativa* vient du latin et signifie « cultivé ».

D'après Abbara,(2011), la nigelle est connu sous les noms vernaculaires suivant :

- En Algérie al-sânoudj " السانوج ", en Tunisie.sinouj " السِنُوج "
- Au Moyen-Orient : al-habba al-saouda " الحبة السوداء " (la graine noire) ; habat al-baraka " حبة البركة " (la graine bénie- la semence de bénédiction) ; le cumin noir " الكراوية " ; al-karaway al-saouda , al-kamoun al-ak-hal " الكمون الأكل " ; " السميرا " al-samira " الشونيز " al-shounîz " السوداء " ;
- Yemen : al-qahta " القحطة " ; al-bashma " البشمة "
- En Libye : al-kamoun " الكمون "
- En Egypte : "habbat al-baraka" (la graine bénie).
- En Français : nigelle cultivée ; nigelle des jardins ; nigelle de Crète ; nielle ; nielle du Levant ; nielle romaine ; cumin noir ; faux cumin ; quatre-épice ; tout-épice ; poivre ; sésame noir.

- En Anglais : black seed, black cumin, back caraway, fennel flower, nutmeg flower, Roman coriander.
- En Latin : *Nigella sativa* ; *Nigella cretica* ; *Nigella truncata*.

I.3.3. Introduction sur la famille des Ranunculaceae

C'est en effet une vaste famille, avec environ 24000 espèces regroupées actuellement en plus de 60 genres, les plus importants sont *Ranunculus* avec 3 400 espèces.

Le genre de nigelle compte quelque quinze espèces annuelles de la famille des renonculacées ayant une longue histoire dans la tradition de la médecine populaire (**Geoff et al ., 2006**).

Plantes généralement herbacées, un rhizome ou des racines tubérisées mais parfois annuelle. Les feuilles sont isolées, souvent découpées, fleurs à réceptacle convexe allongé, les pièces florales sont disposées en verticilles ou spiralées. Le calice est souvent pétaloïde, la corolle comporte 5 pétales, ou bien est nulle, ou parfois remplacée par des nectaires. Les étamines sont nombreuses, les carpelles en nombre variable, libres entre eux. Le fruit est un akène ou un follicule, l'albumen est abondant (**Paris et Moyse, 1981**).

Selon **Michel (2010)**, les Ranunculaceae sont réparties surtout dans les régions tempérées et froides de l'hémisphère nord.

D'après **Guignard (2001)** et **Mahboubi (2013)**, *Nigelle sativa* L. appartient :

- **Règne** : plantae
- **Embranchement** : Spermaphyte.
- **Sous-embranchement** : Angiosperme
- **Classe** : Dicotylédone
- **Ordre** : Renonculales
- **Famille** : Ranonculacées
- **Genre** : *Nigella*
- Espèce : *Nigella sativa* **L.**

Selon la classification moléculaire et cladistique, la systématique phylogénétique APG III version 2009, basée sur deux gènes chloroplastiques et un gène nucléaire du ribosome :

Le genre *Nigella* appartient aux Angiospermes, au clade des Dicotylédones vraies ou Eudicotylédones, à l'ordre des Ranunculales, à la famille des Ranunculaceae et à la sous famille des Ranunculoideae (**Chase et Reveal, 2009**).

I.3.4 Description de la plante « *Nigella sativa* »

Nigella sativa L. est une plante herbacée, annuelle, à tige dressée, côtelée, anguleuse et rameuse d'une soixantaine de centimètres de hauteur, portent des feuilles fine, pennées d'aspect plumeux et de couleur gris-vert (Mokkedem ,2004 ; Teuscher et al ., 2005 ; Wolfgang, 2008). Les fleurs sont solitaires et terminales, bisexuées, radiales, très riches en nectar, en forme étoilées (figure 2) (Mokkedem ,2004).

La plante est hermaphrodite à reproduction autonome dont le fruit est une capsule formée de 3 à 6 carpelles soudés entre eux jusqu'à la base des styles persistants, Chaque capsule contient plusieurs graines triangulaires blanchâtres et à maturité, elles s'ouvrent et l'exposition des graines à l'air les rend noire (Teuscher et al .,2005 ; Laurent, 2007) (figure 3). Ses graines sont oblongues, anguleuses, irrégulièrement trigones de 1.5mm de long, sur 1mm de large. Son odeur est très caractéristique, sa saveur est agréable et un peu amère (Dellile, 2007) (figure 4).



Figure 1 : Aspect morphologique de la plante entière de *Nigella sativa* (Goblin, 2006)



Figure 2 : la fleur de *Nigella sativa* (Anonyme, 2009)



Figure 3 : la capsule de *Nigella sativa* (Pasha, 2008)



Figure 4: la graine de *Nigella sativa* (Anonyme, 2009)

I.3.5 La distribution géographique de la nigelle

- **Dans le monde :**

La graine de Nigelle est une plante qui pousse une fois par an et qui est considérée comme une plante indigène de la Méditerranée mais qui a été cultivée dans d'autres régions du monde comme en Arabie Saoudite, en Inde, en Syrie, en Afrique du Nord et dans certaines régions d'Asie (Avenzoar, 2012).



Figure 5: la distribution de *Nigella sativa* (Anonyme, 2007)

- **En Algérie :**

La nigelle est cultivée un peu partout en Algérie (Belouad, 2005). Les régions de la Mitidja et du Sahel en sec, ainsi que les régions d'Adrar, de Touggourt et l'Oranais en irrigué lui conviennent bien (Mokkedem, 2004)

I.3.6. Culture de la nigelle

La plante est très peu exigeante et pousse sur des terrains argileux ou sablonneux, dans des endroits chauds et peu humides.

Les graines sont semées en général au printemps, elles commencent leur germination dans les trois à quatre semaines. Après environ six mois de croissance végétative, la floraison apparaît et les graines continuent leur maturation pendant un bon mois encore. Dès le jaunissement des feuilles, le brunissement des follicules, la récolte peut être faite à l'automne pour séchage à l'ombre (Teuscher et al., 2005).

I.3.7. Composition chimique

En raison de leur large domaine d'usage médicinal, les graines de *Nigella sativa* ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques intensives dans le but d'identifier ses principes actifs. Ces études ont révélé que ces graines sont très riches en plusieurs constituants tant de métabolites secondaires que primaires, dont la teneur varie selon les conditions géographiques et climatiques, ainsi que les méthodes d'études (extraction et détection).

a. L'huile fixe

Représente 37,9-39,2% du poids de la graine. Elle est constituée principalement de lipides neutres 96,1%-97,2%, de lipides polaires 3% et de phospholipides 0,32-1,05% (Ramadan et Mörsel, 2002).

b. Huile essentielle

Représente entre 1,4–1,9% du poids de l'huile fixe et 0,18 à 0,50% du poids des graines (**Benkaci-Ali et al., 2006**). L'analyse de cette huile par GC-MS réalisée par **Burits et Bucar (2000)**, a permis d'identifier 32 composants, dont la majorité d'entre eux sont des monoterpènes : *P*-cymène (teneur \approx 38%), thymoquinone (\approx 30%), α -pinène (5 à 14 %), β -pinène (\approx 5%) et limonène (\approx 4 %). D'autres travaux précisent que le limonène (\approx 60 %) et l' α -thuyène (\approx 15 %) sont les principaux constituants de l'huile essentielle et qu'ils sont accompagnés d' α -pinène, de γ -terpinène, de sabinène et de benzoate de méthyle ; pour d'autres auteurs, il s'agirait de *P*-cymène (\approx 77 %), d'acétate de citronellyle (5 %), de carvone (4 %) et de limonène (4 %).

c. Lipide

Représentent entre 30 à 35 % du poids de la graine ; les acides formant des triglycérides sont constitués de 50 à 60 % d'acide linoléique, 18 à 25 % d'acide oléique, 10 à 15 % d'acide palmitique, 3 à 4 % d'acide stéarique, 2 à 3 % d'acide eicosadiénique ; ces acides majoritaires sont accompagnés de petites quantités d'acide myristique, palmitoléique, stéarique, α -linoléique, arachinique, eicosénique et eicosapentadiénique.

d. Polyphénols et 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 colorées très répandues chez les végétaux. Les Renonculacées sont un groupe riche en flavonols et en flavones.

En 1997, trois nouveaux flavonoïdes triglycosylés (*figure 6*) ont été isolés à partir des graines de *N. sativa* et leurs structures ont été déterminées (**Merfort et al., 1997**):

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

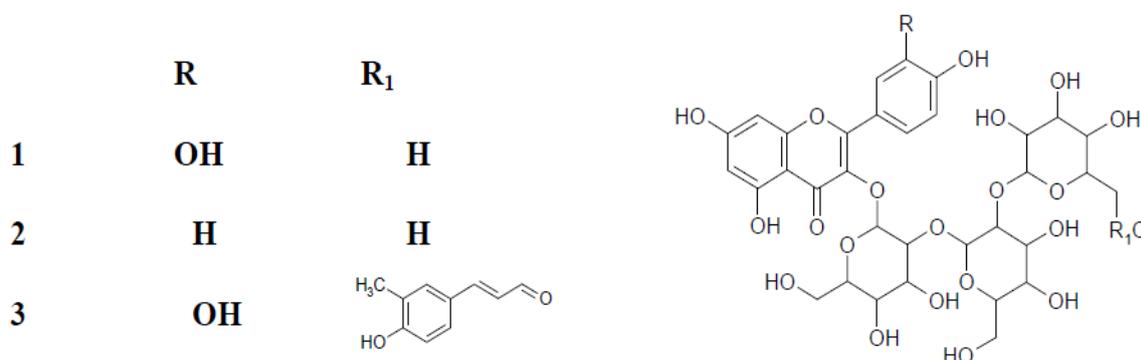


Figure 6: Structure chimique des trois flavonoïdes isolés de *N.S* (**Merfort et al.,1997**).

e. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances présentant un caractère alcalin, contenant de l'azote, le plus souvent inclus dans un hétérocycle. Les alcaloïdes ont, pour la plupart, des actions physiologiques et thérapeutiques à faibles doses. Ils deviennent cependant très toxiques à fortes doses.

Les plus importants alcaloïdes de *N. sativa* (figure 7) ont été isolés à partir des graines entre 1985 et 1995 :

- ❖ Nigellicine, à noyau indazole (**Atta-ur-Rahman et al., 1985b**)
- ❖ Nigellimine, une isoquinoléine (**Atta-ur-Rahman et Zaman,1992**)
- ❖ Nigellimine N-oxyde, dérivé N-oxyde de la nigellimine (**Atta-ur-Rahman et al., 1985a**)
- ❖ Nigellidine, également un indazole (**Atta-ur-Rahman et al., 1995**)

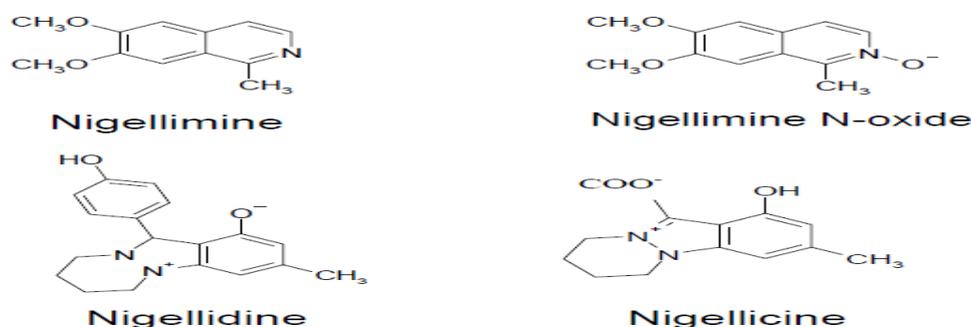


Figure 7: Structure chimique des principaux alcaloïdes de *N.S* (**Atta-ur-Rahman et al.,1995**)

f. Les protéines

Les graines de *Nigella sativa* sont très riches en protéines (environ 20 %), avec dominance d'acide glutamique (22,4%), d'acide aspartique (10,05%) et d'arginine (9,18%) (**AL-gaby, 1998**)

g. Les vitamines et sels minéraux

La composition en vitamines a été déterminée et révèle la présence des vitamines A, B1, B2, B6, PP et de l'acide folique (**Nergir et Otles., 2003**)

Les tocophérols totaux constituent 0,05% de l'huile, et sont constitués majoritairement de l' α -tocophérol (48%) et du γ -tocophérol (28%). D'autres vitamines liposolubles comme le β -carotène (0,05%) et la vitamine K1 (0,1%).

Des travaux sur la composition minérale de la graine de *Nigella sativa* ont rapporté que sa teneur en potassium est importante (1,18 % de poids total de la graine) et que le calcium, le fer, le sodium représentent 0,188 ; 0,0575 et 0,0853 % respectivement (**Nergiz et Otles., 2003**).

La teneur des graines en sélénium a été également déterminée, elle représente 0,27 à 0,54 mg/kg de graines (**AL-Saleh et al., 2006**)

I.3.8. Propriétés thérapeutiques de *Nigella sativa*

Durant les vingt dernières années, plusieurs travaux ont porté sur l'étude de *Nigella sativa*, notamment sur les effets dus aux extraits de la graine de cette espèce ainsi qu'aux principaux constituants (notamment la thymoquinone) sur divers systèmes *in vivo* et *in vitro*. Ces travaux ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine moderne, parmi ces effets on souligne les plus importants :

a. Propriétés antibactériennes

L'huile essentielle de *N. sativa* a inhibé la croissance des bactéries Gram positif et négatif dans une étude réalisée sur plusieurs bactéries, sauf certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Les composés phénoliques présents dans l'huile seraient responsables de cet effet antibactérien (Toparслан, 2012)

Une étude *in vitro* par la méthode de diffusion sur disque a mis en évidence la forte activité inhibitrice de l'huile essentielle diluée au centième contre plusieurs bactéries dont *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Vibrio cholerae*, avec une plus forte action sur les bactéries Gram(+) (Toparслан, 2012).

b. Propriétés antifongiques

Les différents extraits étudiés sur les bactéries ont également été utilisés pour déterminer l'activité antifongique. L'essai de l'huile essentielle diluée au centième par la méthode de diffusion sur disque, cité précédemment, a été réalisé sur des champignons du genre *Aspergillus* et *Microsporium*. L'effet antifongique de l'huile essentielle de nigelle a été observé au même titre que l'effet antibactérien (Toparслан, 2012).

d. Propriétés antidiabétiques

La nigelle inhibe l'absorption de glucose par l'intestin et régule le poids, en même temps. Elle sera intéressante pour compléter un traitement contre l'insulino-résistance (Saidi, 2012).

Sur des lapins hyperglycémiques et normaux, l'huile essentielle de nigelle a été injectée par voie intra-péritonéale à une dose de 50 mg/kg. Quatre à six heures après administration, une diminution de la glycémie a été observée (15-23%). L'amélioration de la glycémie n'étant pas accompagnée de modification de l'insulinémie, cet effet de la nigelle serait indépendant des mécanismes insuliniques (AL-Hader et al., 1993).

e. Autre propriétés

La recherche réalisée par le laboratoire de recherche immunobiologique contre le cancer de Caroline du Sud a révélé que l'huile de nigelle (les graines de nigelle) aide généralement à la stimulation de production de la moelle osseuse ainsi que détruit les cellules cancéreuses et augmente le nombre d'anticorps (Khanom, 2012).

Grace à l'un de ses composants, la nigellone, qui offre à la fois des propriétés antispasmodiques et de broncho-dilatation, la graine de nigelle est un remède puissant contre les maladies respiratoires (**Khanom , 2012**).

La graine de nigelle est un antioxydant qui aide le corps à se nettoyer de ses toxines (**Khanom , 2012**).

Nawaz et al., (2011) démontent que l'administration de thymoquinone réduit significativement les symptômes oculaires de la conjonctivite allergique.

Chapitre II :
Matériel et
Méthodes

Notre travail consiste à l'extraction de huile essentielle, la caractérisation de l'extrait aqueux de la graine de nigelle « *Nigella sativa* » et à déterminer leur effet antimicrobien et pharmacotoxicologique.

L'extraction de l'huile essentielle à partir des graines de nigelle a été réalisée au laboratoire de chimie de l'université SAAD DAHLEB de Blida. La caractérisation phytochimique, l'activité antimicrobienne et l'effet pharmacotoxicologique ont été effectués au niveau des laboratoires de physicochimie, de microbiologie, de pharmacotoxicologie du groupe pharmaceutique ANTIBIOCAL SAIDAL de Médéa, durant une période d'un mois.

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel biologique

II.1.1.1 Matériel végétal

Dans notre étude, nous avons utilisé les graines de nigelle « *Nigella sativa* ». Ces graines ont été achetées, sous forme séchées, chez un herboriste de la Wilaya de Blida. Elles sont originaires d'Ain Ouelman, wilaya de Sétif. Les graines ont été récupérées dans un sac propre pour servir ultérieurement à l'extraction.

II.1.1.2 Les souches microbiennes

Pour mettre en évidence le caractère antimicrobien de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux, nous avons utilisé des bactéries fournies par le laboratoire de microbiologies du groupe Antibiotical SAIDAL de Médéa, il s'agit de six souches de références (**tableau 1**).

Tableau 1: les caractéristiques des souches microbiennes utilisées

Les souches bactériennes	Gram	ATCC
<i>Escherichia coli</i>	-	10536
<i>Bacillus subtilis</i>	+	6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	6538
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	12228
<i>Pseudomonase aeruginosa</i>	-	9027
<i>klebsiella pneumoniae</i>	-	1803

II.1.1.3 Matériel animal

Pour la réalisation de notre expérimentation, nous avons utilisé des animaux de laboratoire qui ont été élevés au niveau du laboratoire de pharmacotoxicologie, unité animalerie du complexe Antibiotical SAIDAL de Médéa à savoir:

- ✓ Des souris de race Swiss albinos, souche *NMRI* (Naval Medical Institute, Bethesda, Maryland, USA), d'un poids moyen de 24 g, ils sont gardés à l'animalerie à une température ambiante variant entre 25 et 30 C° avec 10 heures d'éclairage par jour et 70 % d'hygrométrie. ils sont nourris avec des granulés composés de 49% de glucide, 23.5 % de protéine et 5.7% de complexe minérale vitaminé et l'eau du robinet.
- ✓ Des lapins de race albinos, Ces animaux sont répartis en lots dans des cages en inox. Ils sont gardés à l'animalerie à une température ambiante variant entre 25 et 30°C avec 10 heures d'éclairage par jour et 70% d'hygrométrie. Ils sont nourris avec des granulés alimentaires rationnés à 150 g par jour et par lapin et de l'eau du robinet.

II.1.1.4 Matériel non biologique

Le matériel utilisé au laboratoire (Appareillages, la verrerie et les réactifs) est présenté en **Annexe 1**.

II.2 Méthodes

II.2.1 Préparation de la poudre

Pour soumettre la graine de nigelle « *Nigella sativa* » à une série d'analyse, une élimination de toute substance étrangère à la graine est réalisé (poivre noire, cumin, graine de blé ...etc.)

II.2.1.1 Broyage

Après élimination des substances étrangères, les graines de *Nigella sativa* ont été broyées par un mixeur électrique.

II.2.1.2 Tamisage

La poudre subit un tamisage à l'aide d'un tamis dont les mailles sont de 1000 µm pour séparer les particules trop grossières (**Le hir, 1983**).

II.2.1.3 Conservation

La poudre a été conservée dans des boîtes fermées en plastique à l'abri de la lumière et de l'humidité avant son utilisation. (Figure 8)



Figure 8 : la poudre de la nigelle (originale, 2013)

II .2.2 Préparation de l'infusé (Extrait aqueux) à 10%

L'extraction des principes actifs contenus dans les graines de la nigelle est réalisée par infusion dans l'eau distillée. A cet effet 100 ml d'eau distillée sont portées à ébullition sur une plaque chauffante. Après ébullition, l'eau est versée sur 10 g de poudre végétale puis la préparation subit une filtration après 15 à 20 min d'infusion (**figure 9**).



Figure 9 : l'extrait aqueux des graines de *Nigella sativa* (originale, 2013)

II.2.3 Etude phytochimique (Screening chimiques) de certains métabolites secondaires de *Nigella sativa* L.

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques simples permettant d'orienter rapidement vers l'étude détaillée de quelques types de constituants chimiques. Ces tests permettent de connaître la constitution en métabolites secondaires de *Nigella sativa*. Ils sont réalisés soit sur la poudre de la Nigelle soit sur l'infusé (**Négué, 2003**).

II.2.3.1 Révélation des métabolites secondaires

La mise en évidence de quelques constituants chimiques a été réalisée selon les tests décrite par **Gherib (1988)**

➤ Les glucosides

Quelques gouttes d'acide sulfurique concentré H_2SO_4 à 96% sont ajoutées à 2 g de poudre. En présence des glucosides, la masse se colore en rouge brique.

➤ Les tanins

Dans un tube à essai 1 ml d'une solution aqueuse diluée de $FeCl_3$ à 3% a été ajoutée à 1 ml de l'infusé. En présence des tanins, une coloration verdâtre ou bleu noirâtre se développe.

➤ Les Coumarine

Faire bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'alcool éthylique pendant 15min puis filtrer. 10 gouttes de la solution alcoolique KOH à 10% et quelque goutte d'HCl à 10% sont rajoutées à 5ml du filtrat. Coloration rouge indique la présence des coumarines.

➤ Les Terpènes

5 ml d'extrait de 10% sont mélangés avec 5 ml d'acide phosphomolybdique et 5 ml d'acide sulfurique concentré (96%) (H_2SO_4). L'obtention d'une couleur bleue indique la présence des terpènes.

➤ L'anthocyanine

5 ml d'extrait de 10% sont mélangé avec 4 ml d'hydroxyle d'ammoniac (NH_4OH) concentré (30%). L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanine

➤ Leuco anthocyane

2 g de poudre sont portés au bain marie bouillant pendant quelque minutes dans 20 ml de mélange de propanol / acide chlorhydrique (1/1).Une coloration rouge se développe en présence des leuco anthocyane.

➤ Les saponosides

Quelques gouttes d'une solution saturée d'acétate de plomb ont été ajouté à 2 ml d'infusé. La formation d'un précipite blanc indique la présence de saponosides.

➤ Les Alcaloïdes

3 ml d'acide sulfurique concentré (96%) (H₂SO₄) et 5 ml d'une solution d'iodo mercurate de potassium (réactif de valser Mayer) ont été ajoutés à 5ml d'infusé de 10 %, l'apparition d'une coloration blanc crème, indique la présence des alcaloïdes.

➤ Les Flavonoïdes

Dans un tube à essai contenant 5 ml de l'infusé et 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95%, eau distillée, Hcl concentré à parties égales en volumes), quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isomylique sont ajoutées. La réaction donne une coloration rouge en présence des flavonoïdes.

➤ Les Quinones

2g de poudre végétal humectés par 2ml d'acide chlorhydrique N, sont mis en contact pendant 3 heures dans 20ml de chloroforme, puis sont filtrés. Le filtrat est agité avec 5ml d'ammoniaque (1/2). La formation d'une coloration rouge indique la présence des quinones.

II.2.4 Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles de la nigelle a été réalisée à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger, selon le protocole décrit par **Kacem et Meraihi (2006)**. Il est constitué : d'un chauffe ballon, dont on introduit le matériel végétal et de l'eau distillée, d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement de ballon, d'une ampoule à décanter qui reçoit les extraits de la distillation et d'un thermomètre pour contrôler la température et éviter le surchauffage (**figure 10**)



Figure 10 : Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger (originale, 2013).

II.2.4.1 Mode opératoire

Dans un ballon de 2 litre, 200 g de poudre ont été introduite conjointement avec 1 litre et demi d'eau distillé. L'ensemble est porté à ébullition, après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur, l'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur qui est fixé par un support approprié en position inclinée pour faciliter l'écoulement du distillat. Le temps de cette extraction est d'environ six heures.

Le distillat est recueilli dans le tube gradué qui se termine par une ampoule, cette dernière est munie à la base d'un robinet à partir duquel on pourra récupérer notre fraction d'huile essentielle, tandis que la fraction aqueuse retourne automatiquement dans le ballon générateur de vapeur. Donc la séparation des deux phases non miscibles se fait dans l'appareil en même temps que la distillation. Pour l'obtention d'une quantité suffisante de l'huile essentielle plusieurs extractions ont été réalisées.

II.2.4.2 Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables (Burt, 2004). L'huile essentielle obtenue est conservé à une température voisine de 4C°, dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement à l'abri de l'air et de la lumière jusqu'à son utilisation.

II.2.4.3 Détermination du rendement

Le rendement en huiles essentielles (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu après l'extraction (M_1) et la masse de la matière végétale utilisée (M_0) sèche ou humide (Carré, 1953).

Le rendement RHE est toujours exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = (\text{poids de l'huile en g} / \text{poids de la plante en g}) \times 100$$

II.2.5 Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux

L'huile essentielle et l'extrait aqueux sont connus par leurs caractéristiques organoleptiques telles que l'odeur, la couleur et l'aspect. Ces derniers dépendent des produits que constituent l'huile essentielle et l'extrait aqueux.

II.2.6 Les activités biologiques de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux

Ces tests biologiques consistent à prouver les effets thérapeutiques de la plante étudiée à savoir l'activité antimicrobienne, hypoglycémiant et anti-inflammatoire des graines de « *Nigella sativa* L. ».

II.2.6.1 Evaluation de l'activité antimicrobienne

a. But et principe

Le but repose sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux de la nigelle.

Le principe consiste à estimer l'inhibition de la croissance des micro-organismes en contact de l'huile essentielle et l'extrait aqueux par la méthode de diffusion sur milieu de gélose ou aromatoگرامme en utilisant des disques absorbants de 9mm de diamètre.

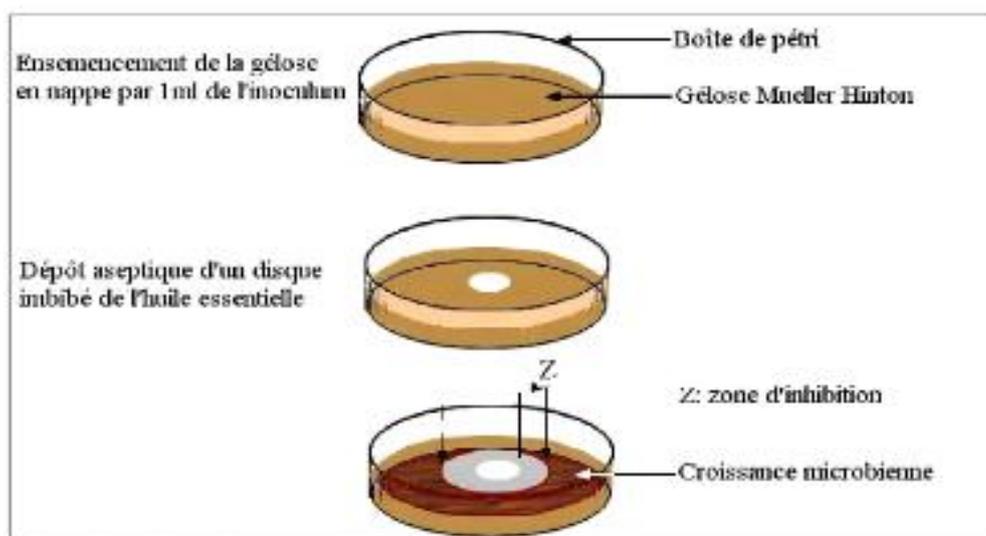


Figure 11 : schéma illustrant la méthode d'aromatogramme (Zaiki, 1988).

II.2.6.1.2 Méthode de l'aromatogramme

La méthode de diffusion des disques ou l'aromatogramme appliquée est celle décrite par Mayachiew & Devahastin (2008); Gachkar *et al.*, (2007) et Hussain *et al.*, (2010).

a. Purification des souches

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées sur milieu gélose nutritif par la méthode de stries, puis incubées à 37 C° pendant 24 h afin d'obtenir des colonies isolées et pures et pouvant servi à l'inoculum.

b. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture bactérienne jeune et pure de 18 heures, nous avons réalisé des suspensions en mettant quelques colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile ensuite, les solutions ont été homogénéisées à l'aide d'un vortex, la suspension doit avoir une densité de 0.5 Mac Farland (figure 12).

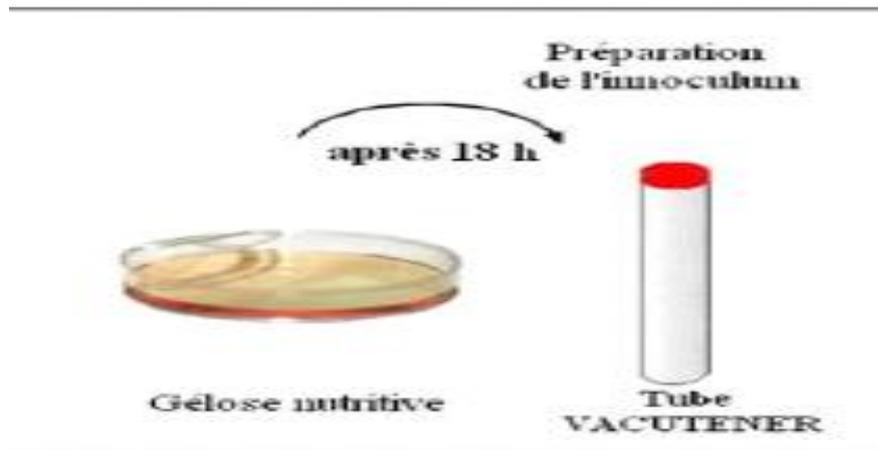


Figure 12 : préparation de l'inoculum

c. L'ensemencement

L'ensemencement se fait par écouvillonnage. Après avoir trempé l'écouvillon stérile dans la suspension bactérienne en le pressant fermement sur la paroi interne du tube à fin de le déchargée au maximum, l'écouvillon est étalé sur la totalité de la surface gélosée séchée, de haut en bas en strie serrée. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillonnage sur la périphérie de la gélose.

d. Application des disques

A l'aide d'une pince stérile, nous avons prélevé un disque imbibé avec l'huile ou l'extrait. Ce dernier est déposé à la surface de la gélose. Nous avons laissé diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes, puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

➤ L'échelle

- ❖ Observer l'absence ou la présence de zone claire autour des disques.
- ❖ Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle.
- ❖ les diamètres des zones d'inhibitions sont classés selon la croissance microbienne en quatre classes Selon **Keshavarz et al.,(1996)**
 - Fortement inhibitrice : diamètre ≥ 28 mm
 - Modérément inhibitrice : $16 \text{ mm} \leq \text{diamètre} < 28 \text{ mm}$
 - Légèrement inhibitrice : $10 \text{ mm} \leq \text{diamètre} < 16 \text{ mm}$
 - Non inhibitrice : diamètre < 10 mm

II.2.6.2 Evaluation de l'activité hypoglycémiante

a. But et principe

Cette étude a été réalisée sur des lapins Albinos selon **Ketta et al.,(1995)**, **Lawson et al., (1997)** **Halimi et al., (2012)**, qui ont étudiés l'activité hypoglycémiante des plantes médicinales sur les lapins.

Le but est la mise en évidence de l'effet hypoglycémiant des différents extraits de *Nigella sativa* sur des lapins rendus hyperglycémiques pour un temps limité (2 heures) par une charge glucosée de 2 ml d'une solution sucrée à 50 %.

Le protocole expérimental suivi est démontré dans la **figure 13**

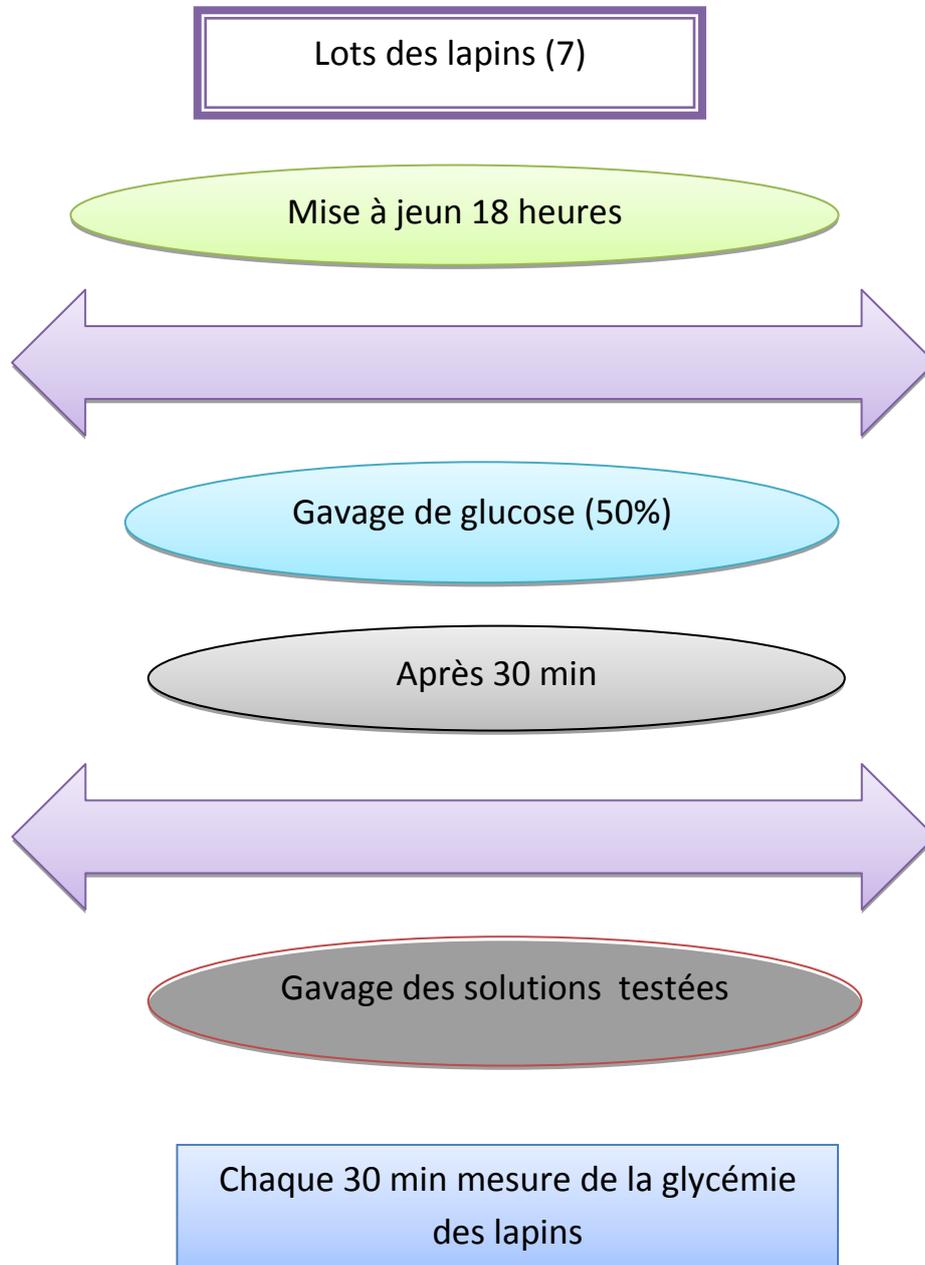


Figure 13 : protocole expérimentale du test hypoglycémiant

b. Préparation de la solution sucrée

Un volume de 100 ml d'eau distillée a été ajouté à 50 g de D⁺ glucose monohydrate pure (C₆H₁₂O₆·H₂O), une solution sucrée à 50% a été ainsi obtenu.

c. Préparation des dilutions

➤ **Huile essentielle :**

10 % : 20 goutte d'H E. dans 10 ml d'huile végétal.

25 % : 45 gouttes H E. dans 10 ml d'huile végétal.

➤ **Extrait aqueux :**

10% : 100 ml d'eau distillée sont portées à ébullition sur une plaque chauffante. Après ébullition, l'eau est versée sur 10 g de poudre puis la préparation subit une filtration après 15 à 20 min d'infusion.

25% : 100 ml d'eau distillée sont portées à ébullition sur une plaque chauffante. Après ébullition, l'eau est versée sur 25g de poudre puis la préparation subit une filtration après 15 à 20 min d'infusion.

d. Répartition des lots (tableau 2)

Pour l'activité hypoglycémiant, nous avons travaillé avec 14 lapins répartis en 7 lots dans le poids est entre 2 à 3 kg, qui sont soumis à jeun 18 heures avant l'expérimentation.

Les sept lots ont subis sept testes différents identifiés comme suit :

✓ **Les lots témoins**

➤ **Lot 1 :** composé d'animaux sains (**témoin +**).

➤ **Lot 2 :** composé d'animaux hyperglycémiques qui ont subis une charge glucosée (2ml de solution sucrée à 50%). Ces lapins ne vont pas être traités (**témoin -**)

➤ **Lot 3 :** composé d'animaux hyperglycémique : qui ont subis une charge glucosée (2ml de solution sucrée à 50%) puis traités par 1 ml / kg de médicament de référence glibenclamide (DIABENIL®) (10 mg diluée dans 100 ml/ kg de poids corporel) (**témoin +**).

✓ **Les lots traités par nos extraits**

➤ **Lot 4 :** composé d'animaux hyperglycémique qui ont subis une charge glucosée (2ml de solution sucrée à 50%) puis traités par 1ml / kg d'extrait aqueux de 10% de *Nigella sativa*

➤ **Lot 5 :** composé d'animaux hyperglycémique qui ont subis une charge glucosée (2ml de solution sucrée à 50%) puis traités par 1 ml /kg d'extrait aqueux de la nigelle à 25%.

➤ **Lot 6 :** composé d'animaux hyperglycémique qui ont subis une charge glucosée (2ml de solution sucrée à 50%) puis traités par 1 ml / kg de l'huile essentielle de la nigelle diluée à 10%.

➤ **Lot 7 :** composé d'animaux hyperglycémique qui ont subis une charge glucosée (2ml de solution sucrée à 50%) puis traités par 1 ml / kg de l'huile essentielle de la nigelle diluée à 25%.

Le gavage a été fait à l'aide d'une sonde gastrique par voie orale.

Pour tous les lots cinq prélèvements ont été réalisés :

- ❖ **T₀** : glycémie de base (avant traitement)
- ❖ **T₁** : après 30 mn de gavage de glucose
- ❖ **T₂** : après une heure de gavage de nos extraits
- ❖ **T₃** : après une heure et demie de gavage
- ❖ **T₄** : après deux heures de gavage

Tableau 2 : Répartition des lots des lapins et les doses de traitement administré

N° de lots	Dose de la solution sucrée	Nature de produits	Dose	Voie d'administration	Poids des lapins
1	-	-	-	-	3000 g
2	2 ml / kg de solution à 50%	Surdosage de glucose	2 ml / kg	Gavage par voie orale	2950 g
3		Médicament de référence glibenclamide	1 ml / kg		2230 g
4		Extrait aqueux 10 %	1 ml / kg		2873 g
5		Extrait aqueux 25 %			3050 g
6		H E 10 %			2225 g
7		H E 25 %			2222 g

e. Détermination de la glycémie

Elle se fait avec un Glucomètre (Réf. **Contour TS**). Une goutte de sang ponctionnée est déposée sur la zone active d'une bandelette. La lecture de la glycémie se fait automatiquement 8 secondes après. Le résultat est exprimé en mg/dl de sang.

II.2.6.3 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

a. But et principe

Le but de ce test est l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire locale des différents extraits obtenus (huile essentielle et l'extrait aqueux) de la nigelle selon la méthode de **winther (1962)**.

Le principe repose sur la détermination de l'épaisseur d'œdème, provoqué suite à une inflammation locale des pattes de souris, par un produit irritant la carraghénine par voie intrapéritonéale. Cette inflammation peut être réduite par l'application d'un anti-inflammatoire par voie orale (Diclofenac) .

Le protocole expérimental suivi est démontré dans la **figure 14**

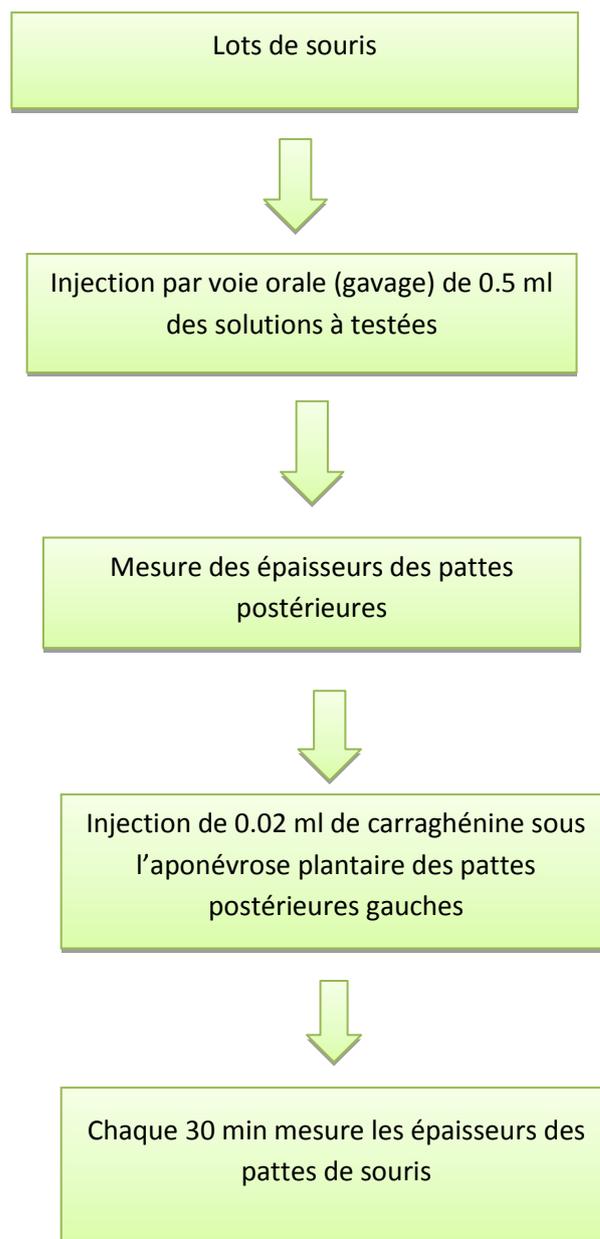


Figure 14: protocole expérimental du test anti –inflammatoire.

b. Préparation des dilutions

➤ **Huile essentielle :**

2 % : 4 gouttes H E. diluée dans 10 ml d'huile végétal.

4 % : 8 gouttes H E. diluée dans 10 ml d'huile végétal.

➤ **Extrait aqueux :**

0.5 % : 100 ml d'eau distillée sont portée à ébullition sur une plaque chauffante. Après ébullition, l'eau est versée sur 0.5 g de poudre puis la préparation subit une filtration après 15 à 20 min d'infusion.

1.25 % : 100 ml d'eau distillée sont portée à ébullition sur une plaque chauffante. Après ébullition, l'eau est versée sur 1.25 g de poudre puis la préparation subit une filtration après 15 à 20 min d'infusion.

2 % : 100 ml d'eau distillée sont portée à ébullition sur une plaque chauffante. Après ébullition, l'eau est versée sur 2 g de poudre puis la préparation subit une filtration après 15 à 20 min d'infusion.

c. Mode opératoire

Le test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'huile essentielle à 2 % ,4 % et de l'extrait aqueux à trois dose : 0.5%, 1.25 % et 2% de *Nigella sativa* sur l'œdème des pattes postérieures provoqué par l'injection de la carraghénine à 1% chez les souris.

L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduit par un produit anti-inflammatoire (huile essentielle ou extrait aqueux de la nigelle).

Les animaux testés sont répartis en 7 lots de 4 souris, souche *NMRI* dont le poids est supérieur à 24 g.

A T₀ : les 7 solutions (eau physiologique, extrait aqueux 0.5 %, 1.25%, 2 %, huiles essentielles de 2 %, 4 % et le médicament de référence Diclofenac) g/ml, sont administrées par gavage par voie orale.

d. Répartitions des lots

Lots témoins

- **Lot 1** : chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau physiologie (**témoin -**)
- **Lot 2** : chaque souris reçoit 0.5 ml de médicament de référence Diclofenac (**témoin +**).

Lots des souris traités par les extraits de *Nigella sativa*

- **Lot 3**: chaque souris reçoit 0.5 ml de l'extrait aqueux de la nigelle de 0.5%.
- **Lot 4** : chaque souris reçoit 0.5 ml de l'extrait aqueux de la nigelle de 1,25%.
- **Lot 5** : chaque souris reçoit 0.5 ml de l'extrait aqueux de la nigelle de 2%.
- **Lot 6** : chaque souris reçoit 0.5 ml de l'huile essentielle de la nigelle de 2 %.
- **Lot 7** : chaque souris reçoit 0.5 ml de l'huile essentielle de la nigelle de 4 %.

Après 1 heure : la carraghénine est injectée sous l'aponévrose plantaire des pattes postérieures gauches à un volume de 0.02 ml à toutes les souris des différents lots d'expérimentation.

➤ Lecture

L'épaisseur des pattes postérieures gauches des 7 lots a été mesurée chaque 30 min à l'aide d'un pied à coulisse.

e. Expression des résultats

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire est exprimée par le pourcentage de l'augmentation et de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport au témoin négatif.

- Le pourcentage de l'augmentation de l'œdème (AUG %) est calcul par la relation suivant :

$$\text{AUG}\% = \frac{\text{volume de la patte au temps } T - \text{volume Initial } (V_0)}{\text{volume Initial } (V_0)} \times 100$$

- Le pourcentage de réduction de l'œdème est calcul par la relation suivant :

$$\text{P}\% = \frac{\text{épaisseur de la patte du témoin} - \text{épaisseur de la patte traitée}}{\text{épaisseur de la patte du témoin}} \times 100$$

f. Outil statistique

La comparaison des moyennes des épaisseurs de l'œdème a été faite avec une corrélation appliquée pour les évaluations statistiques des résultats par le logiciel SPSS (Statistical Data Analysis).

❖ La lecture de la corrélation :

Selon **Horvaine Szabo (1989)**,

- $r < 0,4$: la corrélation est dite faible.
- $0,4 \leq r \leq 0,7$: la corrélation est dite moyenne.
- $0,7 \leq r \leq 0,9$: la corrélation est dite forte.
- $r > 0,9$: la corrélation est dite très forte.

Chapitre III :
résultats et
interprétations

Les essais réalisés, afin de contribuer à la caractérisation ainsi qu'à la valorisation de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de *Nigella sativa*, extraite à partir des graines nous ont permis d'obtenir les résultats suivant :

III.1 Résultats de l'étude phytochimique

D'après l'étude phytochimique menée sur la poudre et l'extrait aqueux des graines de la nigelle, « *Nigella sativa* L. », les résultats obtenus sont figurés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : Représentation des résultats de tests phytochimiques

Substance	Coloration	Résultats de la réaction
Les glucosides	Coloration rouge brique	Positive
Les tanins	une coloration verdâtre ou bleu noirâtre	Positive
Les Coumarine	Coloration rouge	Négative
Les Terpènes	Coloration bleue	Positive
L'anthocyanine	Coloration rouge	Positive
Leuco anthocyane	coloration rouge	Négative
Les saponosides	La formation d'un précipite blanc	Positive
Les Alcaloïdes	coloration blanc crème	Positive
Les Flavonoïdes	coloration rouge	Positive
Les Quinones	Coloration rouge	Positive

Positive = présence

négative = absence

Les résultats mentionnés dans le tableau 3, montrent d'une façon qualitative que notre espèce renferme des composés phénoliques comme les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes. Elle contient aussi des saponoside, des alcaloïdes, des quinones et des glucosides.

III.2 Rendement d'huile essentielle

Nous rappelons que l'huile essentielle a été extraite des graines sèches de *Nigella sativa* par un hydrodistillateur de type Clevenger. Nous avons récupéré une quantité huileuse de 1 ml, le rendement obtenu est 0.5%.

III.3 Examen organoleptique

Les caractères organoleptiques de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle sont représentés dans le tableau 4 :

Tableau 4 : propriétés organoleptique de extrait aqueux et l'huile essentielle

	Caractère organoleptique		
	Aspect	couleur	odeur
Extrait aqueux	Liquide	Marron	Donne une forte odeur rappelant l'odeur des grains
Huile essentielle	Liquide	Jaune	Donne une forte odeur rappelant l'odeur des grains

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 4, nous remarquons que notre huile essentielle extraite des graines sèches récupérée par hydrodistillation à un aspect liquide, une odeur rappelant l'odeur de la graine et de couleur jaune.

Pour l'extrait aqueux la couleur est marron avec une odeur rappelant également l'odeur des graines et d'un aspect liquide. D'après la norme **AFNOR (2000)**, l'aspect de l'huile essentielle de la nigelle est liquide, de couleur jaune avec une odeur caractéristique.

III.4 Résultats des tests biologiques

III.1.4 L'activité antimicrobienne

La méthode de diffusion des disques (aromatogramme), nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux des graines de nigelle vis-à-vis de six bactéries pathogène. Cette étude est basée sur la mesure de diamètre des halos d'inhibition de l'extrait obtenu. Les résultats qualitatifs du pouvoir antimicrobien d'huile essentielle et l'extrait aqueux de la nigelle sur les souches étudiées sont représentés dans le tableau 5 :

Tableau 5 : résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de la nigelle

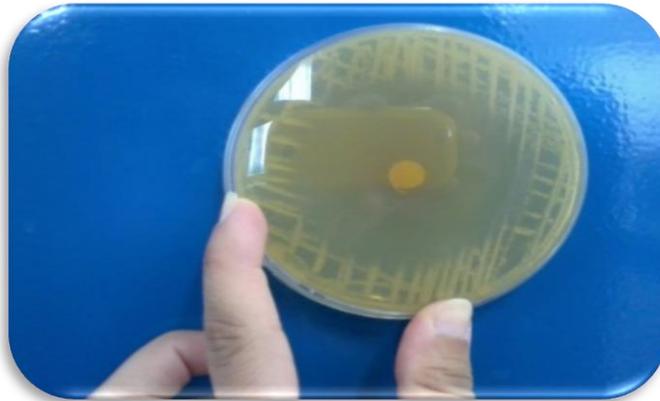
Les souches bactériennes	Zone d'inhibition en (mm)	
	L'huile essentielle (100%)	Extrait aqueux (10 %)
<i>Escherichia coli</i>	19	14
<i>Bacillus subtilis</i>	32	17
<i>Staphylococcus aureus</i>	Toute la surface	10
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0
<i>Pseudomonase aeruginosa</i>	0	0
<i>klebsiella pneumoniae</i>	0	0

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 5, nous remarquons que les diamètres des zones d'inhibition varient d'une souche à une autre. L'huile essentielle de *Nigella sativa* s'est montrée active et très significative contre *Staphylococcus aureus* (toute la surface) et *Bacillus subtilis* (32 mm). La zone d'inhibition enregistrée pour *E. coli* est modérément inhibitrice (19 mm) (figure 15).

Concernant l'extrait aqueux, nous signalons une zone modérément inhibitrice vis-à-vis *Bacillus subtilis* (17 mm), et une zone légèrement inhibitrice *E. coli* (14 mm) et *Staphylococcus aureus* (10 mm).

Pour *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, aucune zone d'inhibition n'est observée ce qui signifie la résistance de ces bactéries à nos extraits.

D'après le tableau 5, nous constatons facilement que l'extrait aqueux des graines de la nigelle n'a pas une bonne activité si on le compare avec l'huile essentielle. Malgré l'existence des zones d'inhibition, relativement faibles, nos résultats concernant l'extrait aqueux prouvent l'existence d'une activité antibactérienne.



a. Zone d'inhibition vis-à-vis *Bacillus subtilis*.



b. Zone d'inhibition vis-à-vis *Staphylococcus aureus*.



c. Zone d'inhibition vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae*

Figure 15 : Effet inhibiteur de l'huile essentielle des graines de la nigelle sur les souches bactériennes testées

III.4.2 L'activité hypoglycémiante

Les résultats d'évolution de la glycémie moyenne (mg / dl) chez les lapins Albinos sont représentés dans le tableau 6 :

Tableau 6: Evolution de la glycémie moyenne (mg/dl) chez les lapins

	0 h	1 / 2 h	1 h	1 h 30	2 h
Lot 1	97.5	95.5	96	88.5	47.5
Lot 2	129	131.5	142.5	149	116.5
Lot 3	86	118.5	108	55.5	49
Lot 4	73	116.5	95.5	100.5	82.5
Lot 5	70.5	100.5	92	96.5	100
Lot 6	74	102.5	95	112	88
Lot 7	84	119	81.5	100	93

Lot 1 : animaux sains

Lot 2 : animaux dont l'hyperglycémie est provoquée par une charge glucosée de 50 % (**témoin-**)

Lot 3 : animaux dont l'hyperglycémie est provoquée par une charge glucosée de 50 % ensuite traité par glibenclamide (DIABENIL®) (**témoin-**).

Lot 4 : composé d'animaux hyperglycémiques traités par 10% de l'extrait aqueux de la nigelle.

Lot 5 : composé d'animaux hyperglycémiques traités par 25% de l'extrait aqueux de la nigelle.

Lot 6 : composé d'animaux hyperglycémiques traités par 10% de l'huile essentielle de *nigella sativa*.

Lot 7 : composé d'animaux hyperglycémiques traités par 25% de l'huile essentielle de *nigella sativa*.

La figure 16 montre la variation du taux de glycémie

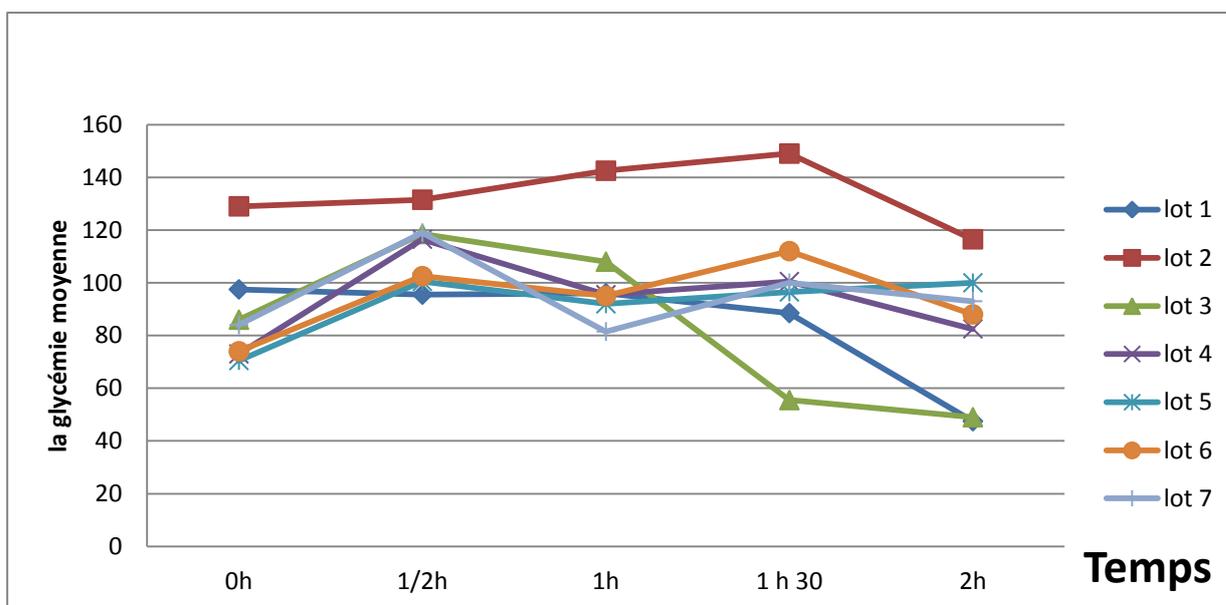


Figure 16 : Résultats de l'activité hypoglycémiante de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de la nigelle

L'objectif de ce texte est de mettre en évidence l'effet de nos extraits sur la glycémie, nous avons utilisé des témoins représentés par le lot 1 qui comportent les témoins sains (témoin -), lots 2 qui comprend les animaux ayant subis la charge glucosée (témoin-) et le lot 3 (témoin +) qui contient les animaux ayant subis la surcharge glucosée et le médicament de référence.

D'après la figure 16, nous remarquons pour le lot 1, une variation de la glycémie. Cette variation est exprimée par une glycémie de 97.5 mg / dl au début de l'expérimentation (0 h) qui subit une diminution de 95.5 mg/dl jusqu'à 47.5 mg / dl de glycémie après 2 h d'expérimentation.

Pour lot 3, Après 30 min de l'administration de 10 mg de glibenclarnide (1 ml / kg) nous enregistré une baisse considérable de la glycémie de 118.5 jusqu'à 49 mg/ dl.

En revanche pour le lot 2, nous notons une élévation considérable (149 mg/ dl), après ½ heures, une légère augmentation de 129 à 131.5 mg/dl a été enregistré. Après 1 heure une élévation allant 142.5 à 149 mg/ dl. La glycémie reste toujours élevée après 2 heures, de façon peu significative de 116.5 mg/dl.

Nous déduisons de ces résultats que la solution sucrée a pu provoquer une hyperglycémie chez les lapins durant notre expérience.

D'après la figure 16, pour le lot 4, à 1 h 30 de l'administration de 10% de l'extrait aqueux de la nigelle, nous avons remarqué une augmentation de la glycémie de 95.5 à 100.5 mg/dl et après 2h nous avons constaté une diminution de glycémie de 100.5 à 82.5 mg/dl.

Chez les animaux de lot 5, traités par 25% d'extrait aqueux de la nigelle, après 1 heure, nous avons noté une diminution de 100.5 à 92 mg/dl. Après 1h 30 min, nous avons observé une augmentation de la glycémie de 96 à 100 mg/dl.

Ces résultats permettent à certains point de déduire que l'extrait aqueux de *Nigella sativa* à 10% à une activité hypoglycémiant en comparant avec le médicament de référence.

Concernant les lots 6 et 7 traiter par l'huile essentielle de 10% et 25% successivement ont montré après 1 heure une diminution allant de 102.5 à 95mg/dl et 119 à 81.5mg/dl successivement ensuite une élévation de 95 à 112mg/dl pour le lot 6 et 81.5 à 100mg/dl pour le lot 7, après 1h30 nous avons noté une diminution considérable de la glycémie après 2h de l'expérimentation (112 à 88 mg/dl et 112 à 93 mg/dl successivement).

Ces résultats ont prouvé que l'huile essentielle à 10% et 25% possèdent une activité hypoglycémiant en comparant avec le lot témoin qui contient les lapins traités avec le médicament de référence.

III.4.3 L'activité anti inflammatoire

Notre étude avait pour but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de *Nigella sativa*. Les expériences ont été réalisées sur le modèle de l'œdème aigu de la patte de souris induit par la carraghénine 1 %.

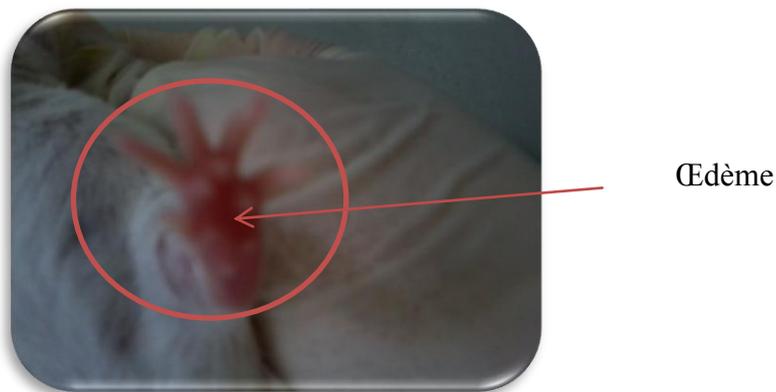


Figure 17 : L'œdème provoqué chez les pattes gauches des souris

L'administration de l'eau physiologique et des huiles essentielles ainsi que l'extrait aqueux de notre plante à des souris est suivie par l'injection de carraghénine à 1 % dans la surface plantaire des pattes postérieures ; nous a permis de déterminer l'activité anti-inflammatoire de nos extraits.

L'évolution des épaisseurs moyennes des pattes gauches des souris de chaque lot (en mm) sont mentionnées dans le tableau 8

Tableau 8: Epaisseur moyenne des pattes gauches des souris en mm

	Avant	Après l'injection de carraghénine 30min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
Lot 1	2.8	3.1	3.2	3.5	3.7	3.8	4
Lot 2	2.6	2.9	2.8	2.6	2.6	2.6	2.6
Lot 3	2.8	2.9	3	2.9	2.9	2.9	2.9
Lot 4	2.7	2.9	2.9	2.8	2.7	2.7	2.7
Lot 5	2.9	3	3	2.9	2.9	2.9	2.9
Lot 6	2.7	2.9	2.9	2.8	2.7	2.7	2.7
Lot 7	2.9	3	3	2.9	2.9	2.9	2.9

Lot témoins 1 : composé des souris qui ont reçu 0.5 ml de l'eau physiologique.

Lot témoin 2 : composé des souris qui ont reçu 0.5 ml de médicament de référence Diclofenac 50 mg/g.

Lot 3 : composé des souris qui ont reçu 0.5 ml de l'extrait aqueux de 0.5%.

Lot 4 : composé de souris qui ont reçu 0.5 ml de l'extrait aqueux de 1.25%.

Lot 5 : composé de souris qui ont reçu 0.5 ml de l'extrait aqueux de 2%.

Lot 6 : composé des souris qui ont reçu 0.5 ml de l'huile essentielle à 2%

Lot 7 : composé des souris qui ont reçu 0.5 ml de l'huile essentielle 4%.

❖ Pourcentage de l'augmentation

Le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris en fonction de temps sont représentés dans le tableau 9 et la figure 17

Tableau 9 : le pourcentage de l'augmentation de l'œdème de pattes postérieures gauches des souris

	0 h	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
Lot 1	0%	12.53%	14.35%	21.43%	31.26%	36.94%	42.94%
Lot 2	0%	9.49%	7.55%	0%	0%	0%	0%
Lot 3	0%	4.42%	7.96%	0%	0%	0%	0%
Lot 4	0%	9.35%	10.49%	9.72%	0%	0%	0%
Lot 5	0%	4.35%	5.32%	0%	0%	0%	0%
Lot 6	0%	9.34%	10.92%	16%	0%	0%	0%
Lot 7	0%	3.46%	3.46%	0%	0%	0%	0%

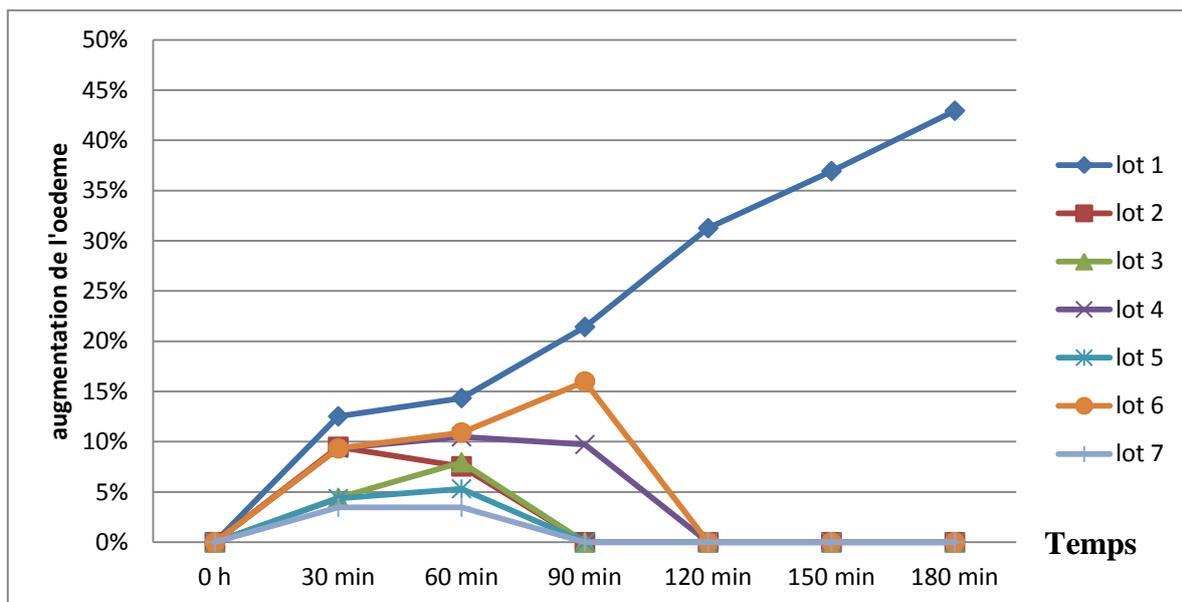


Figure 18 : pourcentages de l'augmentation de l'œdème des pattes des souris en fonction de temps

L'analyse de la figure 18 montre que pour le lot 1 des souris non traitées (témoin -) après l'injection de la carraghénine l'œdème des pattes augmente en fonction du temps pour atteindre un maximum (42.94%) à 180 min.

Les souris traitées par Diclofinac à la dose de 50 mg/g (témoin +), l'huile essentielle (2% et 4%) et par l'extrait aqueux (0.5%, 1.25% et 2%) l'inflammation de la patte atteint son maximum de 7.55%, 7.96%, 5.32%, 3.46% à 60 min respectivement pour les lots 2, 3, 5 et 7,

Concernant les lots 4 et 6 l'inflammation atteint son maximum de 9.72% et 16% respectivement à 90 min après l'injection de la carraghénine, ensuite l'inflammation commence à diminuer pour disparaître totalement.

❖ Pourcentage de la réduction

Les pourcentages de réduction des œdèmes des pattes postérieures gauches des souris sont indiqués dans le tableau 10 :

Tableau 10 : pourcentage de réduction de l'œdème des pattes postérieures gauches des souris

	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
Lot 1	10.71%	14.28%	25%	32.14%	35.71%	42.85%
Lot 2	11.53%	7.69%	-	-	-	-
Lot 3	3.57%	7.14%	3.57%	3.57%	3.57%	3.57%
Lot 4	7.40%	7.40%	3.70%	-	-	-
Lot 5	3.44%	3.44%	3.44%	3.44%	3.44%	3.44%
Lot 6	7.40%	7.40%	3.70%	-	-	-
Lot 7	3.44%	3.44%	-	-	-	-

Lot témoins 1 : composé des souris qui ont reçu 0.5 ml de l'eau physiologie.

Lot témoin 2 : composé des souris qui ont reçu 0.5 ml de médicament de référence Diclofenac 50 mg/g.

Lot 3 : composé des souris qui ont reçu 0.5 ml de l'extrait aqueux de 0.5%.

Lot 4 : composé de souris qui ont reçu 0.5 ml de l'extrait aqueux de 1.25%.

Lot 5 : composé de souris qui ont reçu 0.5 ml de l'extrait aqueux de 2%.

Lot 6 : composé des souris qui ont reçu 0.5 ml de l'huile essentielle à 2%.

Lot 7 : composé des souris qui ont reçu 0.5 ml de l'huile essentielle à 4%.

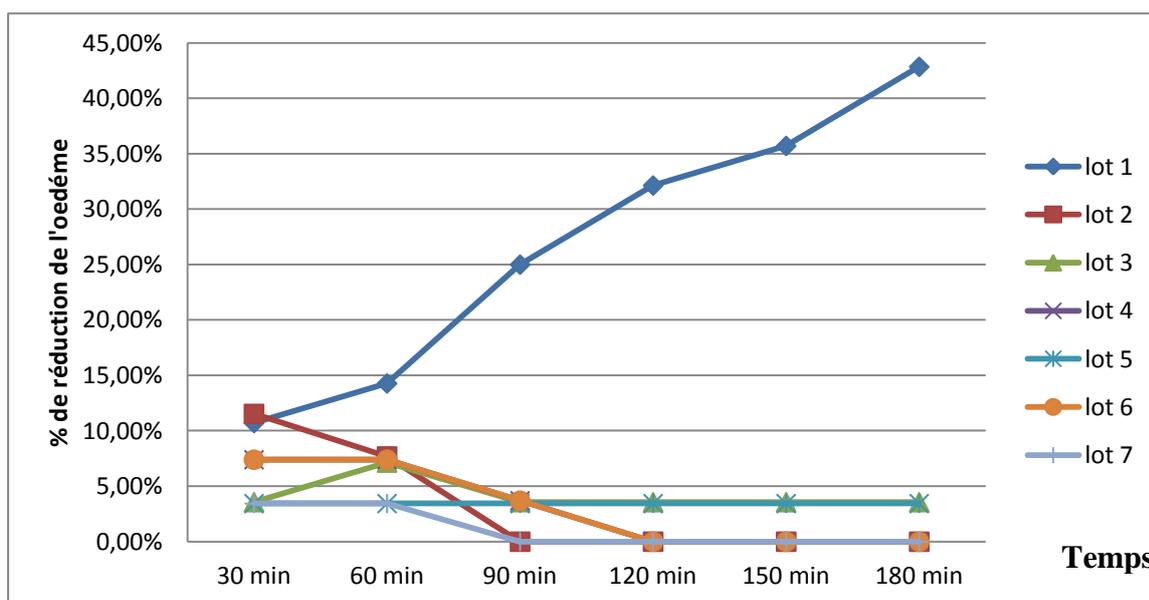


Figure 19 : Pourcentage de réduction de l'œdème des pattes des souris en fonction de temps

Après l'administration de la **carraghénine** au niveau de pattes postérieures des souris, nous a permis d'observer la formation des œdèmes et une augmentation des épaisseurs chez toutes les souris des 7 lots.

Après 1 heure de l'administration de **carraghénine**, chez le lot 1 traité par l'eau physiologie, nous n'avons pas noté une baisse d'œdème par contre chez le lot 2 traité par l'anti-inflammatoire Diclofenac, nous avons observé une réduction de 11.53 à 7.69%. Il atteint sa stabilisation après 60 min de l'injection.

Pour les animaux de lot 3 dont la dose de l'extrait aqueux de la nigelle administrée est de 0.5%, nous avons observé une légère réduction d'œdème (7.14% à 3.54%) après 60 min de l'injection de la carraghénine. La réduction de ces œdèmes est très lente dans le temps car il n'atteint le point de stabilisation qu'après 120 min de l'injection.

Pour les animaux de lot 4 dont la dose de l'extrait aqueux de la nigelle administrée est de 1.25%, une baisse progressive des œdèmes est observée après 30 min de l'injection (pourcentage de réduction de 7.40%), suivie par une baisse moins importante (3.70%) à 90 min qui est le temps de stabilisation.

Pour les animaux de lot 5 dont la dose de l'extrait aqueux de la nigelle administrée est de 2%, nous avons noté une faible réduction des œdèmes (3.44%) durant les 180 min.

Pour les animaux des lots 6, dont la dose de l'huile essentielle de la nigelle administrée est de 2%, nous avons marqué une baisse progressive des œdèmes (7.40%), suivie par une baisse moins importante des œdèmes est observé (3.70%). Le temps de stabilisation étant de 60 min de l'injection.

Pour les animaux de lot 7 dont la dose de l'huile essentielle de la nigelle administrée est de 4%, nous avons observé une faible réduction des œdèmes (3.44%), malgré la faible réduction l'huile essentielle a montré une réaction très rapide car il atteint sa stabilisation après 60 min de l'injection.

D'après les résultats statistiques obtenus nous confirmons qu'il y a une réduction de l'œdème, avec une différence hautement significative de 0.942, 0.965, 0.971, 0.969 et 0.964 ($r > 0.9$) respectivement à EA à 0.5 %, 1.25% et 2%, HE. A 2% et 4%, comparons ces résultats avec traitement standard Diclofenac 0.898 (**tableau 11, Annexe III**).

D'après les résultats obtenus, nous avons déduit que nos substances injectées ont un effet anti-inflammatoire par rapport aux témoins.

Chapitre IV
Discussion

Les résultats de notre étude phytochimique préliminaire des graines de la nigelle montrent leur richesse en métabolites secondaires tel que les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les glucosides et les quinones. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Merfort et al., (1997)**, **Atta-ur-Rahman et al., (1995)**, qui ont trouvé que les graines de la nigelle sont très riches en polyphénols et les flavonoïdes, En 1997, trois nouveaux flavonoïdes triglycosylés ont été isolés à partir des graines de *N. sativa* qui ont une activité anti-inflammatoire, antiseptique et antioxydante.

Entre 1985 et 1995 **Atta-ur-Rahman et al.,(1995)**, ont isolés à partir des graines de nigelle les plus importants alcaloïdes (Nigellicine, Nigellimine, NigellimineN-oxyde et Nigellidine) qui ont une action cicatrisante, antihistaminique (sert à réduire ou à éliminer les effets de l'histamine, un médiateur chimique endogène libéré entre autres au cours des réactions allergiques), antioxydante et un effet anti-infectieux.

Selon **Dellile (2007) et Belouad, (2005)**, les graines sont constituées aussi des tanins et de glucoside. Egalement les graines de *Nigella sativa* sont très riches en protéines (environ 20 %), avec dominance d'acide glutamique (22,4%), d'acide aspartique (10,05%) et d'arginine (9,18%) (**AL-gaby, 1998**).

La richesse de cet extrait aqueux en composés chimiques actifs pourrait expliquer son utilisation traditionnelle pour soigner de nombreuses maladies (**Adjanohoun et al., 1989**).

Nous rappelons que le rendement est de 0.5%. Nos résultats concordent avec ceux de **Benkaci et al.,(2006)**, qui ont prouvé que le rendement de huile essentielle de graines de nigelle est environ 0.18 à 0.50%.

Par contre, **Dominiczak et al., (1991)**, ont trouvé que le rendement des huiles essentielles des graines de nigelle est entre 0.4 -2.5%.

Cette différence du rendement de l'huile essentielle est toute à fait normale et semble être lié aux propriétés génétiques des graines ainsi qu'à l'origine géographique, la durée de stockage, la période de récolte et aussi aux méthodes d'extractions appliquées (**Silano et Delbò, 2008; Marzoukia et al., 2009; Aprotosoia et al., 2010; Olle et Bender, 2010**).

Les caractéristiques organoleptiques de notre huile essentielle obtenue par le dispositif de Clevenger sont comparables à celles données par l'association française de normalisation **AFNOR (2000)**. Ces caractéristiques qui s'expriment par une forte odeur rappellent l'odeur des graines, un aspect liquide et une couleur jaune.

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle et l'extrait aqueux des graines de la nigelle vis-à-vis six bactéries.

Dans la présente étude, nous n'avons testé de l'huile essentielle étant pure, parce que, d'après **Manou et al. (1998) et Bagamboula et al. (2004)**, il n'y a aucun rapport entre la concentration d'huile essentielle ou du composé actif et la zone d'inhibition. Cette dernière semble dépendre de la capacité des huiles essentielles à diffuser uniformément sur l'agar. Généralement, les huiles

essentielles sont médiocrement solubles dans l'eau, ce qui pose beaucoup de problèmes pour étudier leur activité antibactérienne, ceci a été déjà rapporté par **Southwell et al. (1993)** et **Griffin (2000)**.

D'après nos résultats, nous constatons que *Staphylococcus aureus* (toute la surface) et *Bacillus subtilis* (32 mm) sont les bactéries les plus sensibles aux extraits (tableau 5). Ceci pourrait être expliqué par le fait que les bactéries à G+ possèdent des dispositifs structuraux qui sont plus susceptibles aux huiles essentielles (**Rahman et al., 2010**).

Dans la présente étude, les bactéries à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *klebsiella pneumoniae*) se sont avérées les plus résistantes (0 mm ; tableau 5), Plusieurs travaux notamment ceux de **Ouattara et al. (1997)**; **Hammer et al. (1999)**; **De Billerbeck et al., (2002)**; **Souza et al. (2006)**; **Ahmad et al. (2006)**; **Ağaoğlu et al. (2007)**; **Derwich et al. (2010)** et **Bari et al. (2010)** ont confirmé la grande résistance des bactéries G- par rapport aux G+. Ce constat peut être dû à l'action de certains composés volatiles de l'huile essentielle de la nigelle d'une part et à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries G- qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrant d'autre part (**Inouye et al., 2001**; **Bagamboula et al., 2004** ; **Upadhyay et al., 2010**).

Concernant le *Pseudomonas aeruginosa*, cette bactérie est connue pour sa résistance à n'importe quel genre d'agents antimicrobiens. En réalité, ce comportement n'est pas étonnant parce que *Pseudomonas aeruginosa* a une capacité de former un biofilm qui est une organisation complexe composée de différentes strates dans lesquelles les bactéries se retrouvent en conditions physiologiques spécifiques à leur situation (**Abi-Ayad et al., 2011**).

E. coli s'est avérée sensible à l'huile essentielle (19mm) et l'extrait aqueux (14 mm), malgré qu'elle soit Gram négatif. Il est postulé que les différents composants des huiles essentielles montrent différents degrés d'activité contre des bactéries G- et G+ (**Dorman et Deans, 2000**) et que la composition chimique des huiles essentielles peut varier selon plusieurs facteurs intrinsèque et extrinsèque (**Lahlou, 2004**). Il est connu aussi que les espèces bactériennes n'ont pas également la même sensibilité vis-à-vis d'un agent antibactérien.

Nos résultats concordent avec ceux de plusieurs auteurs notamment **Ali et Blunden, (2002)**, **Khan, (1999)**, qui ont trouvé que l'huile essentielle de *N. sativa* a inhibé la croissance des bactéries Gram positif et négatif dans une étude réalisée sur plusieurs bactéries, sauf certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa* et que Les composés phénoliques présents dans l'huile seraient responsables de cet effet antibactérien.

Dans une étude réalisée par **Morsi, (2000)**, l'extrait aqueux a été actif sur les micro-organismes isolés dans l'arthrite septique. La souche résistante aux antibiotiques (*E. coli*) n'a pas résisté aux extraits étudiés.

L'activité antimicrobienne de nos extraits vis avis de certaines souches principalement *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et du à la présence de certains principe actifs à savoir les flavonoides, les phénols... mis en évidence au cours de l'étude phytochimique. **Narayana et al.,(2001)** , **Seyoum et al., (2006)**, ont démontré que l'activité antimicrobienne des graines de la nigelle est dû à la présence des flavonoïdes en grande concentration.

Concernant l'activité hypoglycémisante, notre travail consiste à rendre les lapins Albinos hyperglycémiques pour un temps limite de 2 heures par une charge glucosée de 2 ml/kg d'une solution sucrée de 50%. Après 30 min, nous avons administré l'huile essentielle et l'extrait aqueux des graines de la nigelle *Nigella sativa*.

Nous avons testés notre solution sucrée sur un lot d'animaux et le comparer avec le lot témoin ; nous constatons que la solution sucrée augmente de façon remarquable la glycémie chez ces animaux.

L'administration de l'huile essentielle (10% et 25%) et de l'extrait aqueux (10% et 25%) aux lapins hyperglycémiques provoque une baisse significative de taux de la glycémie au bout de la première heure, comparable à celle de produit chimique (glibenclamide) qui a réduit le taux de glucose au bout de la 30^{ème} minute ce qui permet de déduire que l'huile essentielle et l'extrait aqueux présentent une activité hypoglycémisante (tableau 7).

Nos résultats sont comparables aux résultats de **Al-Hader et al.(1993)** qui ont montré que l'huile essentielle de la graine administrée par voie intrapéritoneale (à raison de 50 mg/kg) abaisse de façon significative (de 15 à 23 %) la glycémie à jeun chez les animaux normaux et hyperglycémiques. Selon les mêmes auteurs, cet effet serait indépendant des mécanismes insuliniques puisque l'amélioration de la glycémie n'étant pas accompagnée de modification de l'insulinémie, cet effet de la nigelle serait indépendant des mécanismes insuliniques.

Les travaux menés par **Houcher et al (2007) et Altan et al., (2007)** ont montré que le traitement des lapins avec l'huile essentielle et l'extrait aqueux de la nigelle provoque une réduction importante de la glycémie de 58.09 et 73.27 %, respectivement. Cet effet est dû aux principes actifs majoritaires de différents extraits de nigelle qui est la Thymoquinone qui est un agent antidiabétique.

En outre, la présente étude s'est consacrée à la recherche d'un éventuel effet anti-inflammatoire à partir de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de *nigella sativa*. L'expérience a été évaluée en mesurant l'œdème induit par l'injection de la carraghénine à 1 % sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche des souris. Cette substance provoque un œdème de la patte qui est décrit comme un événement diphasique, une phase initiale observée durant la première heure qui est attribuée à la libération de l'histamine et de la sérotonine, et une deuxième phase de gonflement qui est due à la libération des prostaglandines like (**Crunkhorn et Meacock, 1971**).

Par ailleurs, nos résultats montrent que l'inflammation est plus accentuée chez le lot témoin qui n'a reçu aucun traitement, alors que les souris traitées par Diclofénac administré par voie orale, marquent une réduction significative d'œdème de pattes gauches postérieures. Cette diminution du pouvoir inflammatoire de la carraghénine serait attribuée au pouvoir anti-inflammatoire du Diclofénac, un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien qui inhibe la cyclo-oxygénase au sommet d'une cascade de réaction aboutit à la formation de prostaglandine.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle (2% et 4%) et l'extrait aqueux (0.5%, 1.25% et 2 %) présentent un effet anti-inflammatoire. L'étude a montré une réduction de 7,40% pour les deux extraits, presque similaire à celle du traitement standard Diclofénac avec une réduction de 11.53%.

De ce fait, ces extraits réduisent de façon appréciable l'œdème induit par 0.02 % de carraghénine à 1% administré par voie sous plantaire au niveau des pattes postérieures gauche des souris. La réduction de l'œdème confirme l'efficacité de nos extraits comme un agent anti-inflammatoire.

Cela est confirmé par les résultats obtenus par **AL-Ghamdi (2001)**, **AL-Okbi et al., (1998)**, **Hajhashemi et al ., (2004)** , **Mutabagani et EL-Mahdy 1997**, qui ont prouvés que les graines de la nigelle « *nigella sativa* » ont un effet anti-inflammatoire .

Selon **Houghton et al., (1995)** ; **Gilani et al., (2004)**, La thymoquinone, constituant majeur de l'huile essentielle exerce un effet anti-inflammatoire local et systémique important.

D'autre part, **Ghannadi et al., (2005)** ont montré que les polyphénols de *Nigella sativa* disposent de propriétés anti-inflammatoires chez le rat et la souris dans le test de l'œdème de la patte induit par le carraghénine.

D'après Ali et **Blunden, (2002)**, L'huile essentielle de nigelle par voie topique utilisée dans une étude a atténué les effets de l'arthrite et s'est montré anti-inflammatoire et les mêmes effets ont été observés avec les graines prises par voie orale.

Conclusion

Malgré les progrès considérables de la chimie, de l'industrie pharmaceutique et de la médecine, les plantes médicinales n'ont rien perdu de leurs importances. Ces plantes possèdent des composés qui ont des propriétés antidiabétiques, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, ce qui permet leurs utilisations en thérapeutique.

Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer l'activité antibactérienne, hypoglycémiante, et anti-inflammatoire de l'huile essentielle et l'extrait aqueux extrait des graines de *Nigella sativa*.

Au cours de notre travail, nous avons réalisé un screening chimique qui nous a permis la mise en évidence des différents groupes chimiques présents dans l'extrait aqueux des graines de la nigelle.

Les résultats du calcul du rendement en huile essentielle des graines de la nigelle par hydrodistillation étaient de 0.5%.

Les tests phytochimiques ont divulgué la présence des glucosides, des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes avec l'absence des leuco-anthocyanes.

L'étude de la composition chimique des graines de la nigelle montre que de ces derniers sont constitués de plusieurs métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les alcaloïdes et les glucosides.

Les tests de l'activité antimicrobienne réalisée par la méthode de disque sur six souches bactériennes, montrent que le pouvoir de l'huile essentielle de la nigelle est très important sur *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *E. coli*. Néanmoins, l'extrait aqueux a manifesté un effet antimicrobien modérément inhibiteur vis-à-vis de *Bacillus subtilis*, et légèrement inhibiteur pour *E. coli* et *Staphylococcus aureus*. Les autres germes ont manifesté une résistance vis-à-vis de l'extrait de la plante.

L'évaluation de l'activité hypoglycémiante, a montré que l'huile essentielle et l'extrait aqueux de la nigelle sont dotés d'un pouvoir diminuant du taux de la glycémie avec une efficacité variable à des doses différentes.

La recherche de l'effet anti-inflammatoire a montré que l'huile essentielle et l'extrait aqueux de notre plante se sont avérées des anti-inflammatoires efficaces à des doses différentes.

En fin, nos résultats indiquent que l'huile essentielle des graines de la nigelle a une activité antibactérienne intéressante sur quelque souche bactérienne. Concernant, l'extrait aqueux n'a marqué presque aucun effet antibactérien.

En revanche, elle a montré des bonnes activités antidiabétique et anti-inflammatoire.

A l'essor de la présente étude, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur l'huile essentielle des graines de nigelle afin d'isoler, de purifier et d'identifier les composés ayant une activité antidiabétique et anti-inflammatoire.

Jl est judicieux d'élargir la gamme des microorganismes testés afin de généraliser leurs effets antiseptiques. En ce qui concerne les effets pharmacologiques, il est préférable d'appliquer plusieurs doses pour pouvoir déterminer les doses thérapeutiques et toxiques.

*Références
bibliographiques*

- ❖ **Anonyme,2007** « http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2009/shaheen_baya/ »
- ❖ **Anonyme, 2009** « <http://herbe-medicinale.blogspot.com/2009/05/nigelle.html> »
- ❖ **ABBASSAT J.L., 1988.** Mille et une vertus des huiles essentielles. édition. Guy Tredaniel.
- ❖ **Abdul Rahman M.S., Thangaraj S., Salique S.M., khan K.F. and Natheer S.E., 2010.**
« Antimicrobial and biochemical analysis of some spices extract against food spoilage Pathogens ». *Internet Journal of Food Safety*, Vol.12, pp. 71-75
- ❖ **ALI, B., & BLUNDEN, G. (2002).** « Pharmacological and Toxicological properties of *Nigella sativa* ». *Phytother Res* , 15, 59-69.
- ❖ **Abidi S.L.,Thiam S.,Warner I.M.,2002.**” Elution behaviour of unsaponifiable lipids with various capillary electrochromatographic” stationary phases. *J. chromatography.A.n.949*, pp. 195-207.
- ❖ **Abi-Ayad M., Abi-Ayad F.Z., Lazzouni H.A. and Rebiahi S.A., 2011.** « Antibacterial activity of *Pinus halepensis* essential oil from Algeria (Tlemcen) ». *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 1 (1): pp. 33-36
- ❖ **Aboul-Ela E. I., 2002.**” Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping Mutation”. *Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, vol. 516, n. 1-2, pp. 11-17.
- ❖ **Adjanohoun EJ, Adjakidjè V, Ahyi MRA, Ake Assi L, Akoegninou A, d'Almeida J, Apovo F, Boukef K, Chadare M, Dramane K, Eyme J, Gassita JN, Gbaguidi N, Goudoté E, Guinko S, Houngnon P, Issa L, Keita A, Kiniffo H, Koné-Bamba D, Musampa Nseyya A, Saadou M, Sogodandji T, de Souza S, Tchabi A, Zinsou Dossa C, Zohoun T. 1989.** “Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Bénin ». Agence de Coopération Culturelle et Technique, pp : 713-724
- ❖ **Alesandra, Moro Buronzo, 2008,** «Grand guide des huiles essentielles», édition, hachette pratique, P.244.
- ❖ **Ahmad A.M., Khokhar I., Ahmad I., Kashmiri M.A., Adnan A. and Ahmad M., 2006.**
« Study of antimicrobial activity and composition by GC/MS spectroscopic analysis of the essential oil of *Thymus serpyllum* ». *Internet Journal of Food Safety*, Vol. 5, pp.56-60.
- ❖ **Al Gaby, A.M.A. (1998)** « Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with *Nigella sativa* (black cumin) » cake protein. *Die Nahrung*. 42: 290-294.
- ❖ **AL-Ghamdi, M. (2001).** « The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa* ». *J Ethnopharmacol* , 42, 45-48.

- ❖ **Ağaoğlu S., Dostbil N. and Alemdar S., 2007.** « Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry ». *Bull Vet Inst Pulawy* 51, pp.53-57.
- ❖ **Al- hader, Aqelb .M and Hasan.M., 1993,** " Hypoglycemic Effects of the Volatile Oil of *Nigella sativa* Seeds *Int. J. Pharmacog.*, 31, No. 2, pp. 96-100
- ❖ **AL-Okbi S.Y. ; Ammar N.M. ; EL-Kader M.M.A.** « Studies of some biochemical, nutritional and anti-inflammatory effects of *Nigella sativa*.Egypt ». *J. Pharm.Sci.* 1998 : 38 451-469
- ❖ **Altan, M.F., Kanter, M., Donmez, S., Kartal, M.E., Buyukbas, S. (2007)** « Combination therapy of *Nigella sativa* and human parathyroid hormone on bone mass, biomechanical behavior and structure in streptozotocin-induced diabetic rats ». *Acta histochemica*.**109** : 304-314
- ❖ **AlSaleh, I.A., Billedo, G., El-Doush, I.I. (2006),** « Levels of selenium, DL- α -tocopherol, DL- γ -tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds ». *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 167-175.
- ❖ **Aprotosoai A.C., Spac A.D., Hancianu M., Miron A., Tanasescu V.F., Dorneanu V. and Stanescu U., 2010.** « The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill. ». *FARMACIA*, Vol. 58 (1); pp. 46-54.
- ❖ **Atta-ur-Rahman, M., & ZAMAN, K. (1992).** « Nigellimine : a new isoquinoline alkaloid from *Nigella sativa* ». *J Nat Prod* (55), pp. 676-678.
- ❖ **Atta-ur-Rahman, M., Ahmed, S., Choudhary, M., & Habib-arrAhman. (1985a).** « Nigellimine-N-oxide-a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa* ». *Heterocycles* (23), pp. 953-955.
- ❖ **Atta-ur-Rahman, M., cun-Heng, H., & Clard, J. (1985b).** « Isolation and structure determination of nigellicine, a novel alkaloid from the seeds of *Nigella sativa* ». *Tetrahedron letters* (23), pp. 2759-2762.
- ❖ **Atta-ur-Rahman, M., Hassan, S., Coudhary, M., NI, C., & Clardy, J.(1995).** « Nigellidine : a new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa* ». *Tetrahedron letters* (36), pp. 1993-1996.
- ❖ **Avenzora, 2012,** « la graine de nigelle ou cumin noir : un remède miraculeux » P.2.
- ❖ **Aly Abbara, 2011,** « la fleur de la graine noire, http://www.aly-abbara.com/voyages_personnels/syrie/plantes/nigelle_sativa.html», Paris
- ❖ **Baba Aissa , F., 2011,** Encyclopédie des plantes utiles, el Maarifa, Alger, PP. 255, 471.

- ❖ **Bagamboula C.F., Uyttendaele M. and Debevere J., 2004.** « Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri* ». *Food Microbiology* 21: pp. 33-42
- ❖ **Bakkali F., Averbek S., Averbek D., Idaonar M., 2008,** « biological effects of essential oils » *Food chemistry and toxicology*, V.46, Issue 2.
- ❖ **Bardeau F., 1976,** “ les huiles essentielles: Découvrir les bienfaits et les vertus d’une médecine ancestrales ” Fernand Lanore, Paris, 289P.33-34.
- ❖ **Bari M.A., Islam W., Khan A.R. and Mandal A., 2010.** « Antibacterial and antifungal activity of *Solanum torvum* (Solanaceae) ». *Int. J. Agric. Biol.*, 12: pp. 386-390.
- ❖ **Beloud A., 2005,** « plante médicinales d’Algérie » offices des publications universitaires, PP. 144-154.
- ❖ **Benkaci-Ali F., 2007.** « Etude de la composition chimique de la *Nigella sativa* originaire d’Algérie » Thèse de doctorat d’état en chimie organique appliquée, USTHB, 216 .p.
- ❖ **Benkaci-Ali, F., Baaliouamer, A., Meklati, B.Y. (2006)** « Kinetic study of microwave extraction of essential oil of *Nigella sativa* L. » seeds. *Chromatographia*. 64: 227-231.
- ❖ **Benkiki N, 2006** “étude phytochimique des plantes médicinales Algérienne *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*” thèse de doctorat; Université El-Hadj-Lakhadra. Batna.
- ❖ **Béregère Arnal-Schnebel et al., 2008,** « Les plantes médicinales », Selection du Reader’s Digest, Chine, P.253
- ❖ **Bruneton J., 1999.** « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales » édition. Tec & Doc, Paris, 1120,P. 286-426.
- ❖ **Burits, M., Bucar, F. (2000)** « Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil ». *Phytotherapy research*. 14: 323-328.
- ❖ **Cihan Toparslan, 2012,** « À propos de *Nigella sativa* L. » thèse de doctorat en pharmacie université de LORRAINE.
- ❖ **Couplan, F, 2006,** « Dictionnaire étymologique de botanique », delachaux et niestlé, Paris, pp146, p238.
- ❖ **Daba F., Dang xuan T., Yasuda M., Shinkichi T., 2008,** « Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata* » *Food control*, V.19, Issue 4, 346-352.
- ❖ **Damintoti K., Mamoudou H.D., Jacques S., Saydou Y., Souleymane S., et Alfred S.T., 2005.** “Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes

médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso”. Mémoire de l’université de Burkina Faso.

- ❖ **De Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P. & Marquier P., 2002.** « Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d’huiles essentielles ». *Revue hygiène*. Vol. X - N°3, pp. 248- 254.
- ❖ **Dellile, L., 2007,** « Les plantes médicinales d’Algérie », BERTI Edition, Alger, PP. 5-169-170.
- ❖ **Derwich E., Benziane Z. & Boukir A., 2010.** « GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco ». *Res. J. Agric. & Biol. Sci.*, 6 (3):pp. 191-198.
- ❖ **Desmares C., Delerme C., Laurent A., 2008,** “Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles” Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS) Saint- Denis Cedex, Franc.
- ❖ **Dominiczka, A., Lazar, D., Das, A., & Bohr, D. (1991).** Lipid Bilayer in genetic Hypertension. *Hypertension*, 18, pp. 748-757.
- ❖ **Dordevic S., Petrovic S., Dobric S., Milenkovic M., Vucicevic D., Zizic S., Kukic J., 2007** , « Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil » *Journal of ethnopharmacology*, V. 109, Issue 3, 458-463.
- ❖ **Dorman H.J.D. and Deans S.G., 2000.** « Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils ». *Journal of Applied Microbiology* 88, pp. 308-316.
- ❖ **Duraffourd, C., Lapraz, J-C., 2002,** “Traité de phytothérapie chimique, endobiogène et médecine”, Paris p5-6-605.
- ❖ **Fintelmane, V., Weisse, F., 2004,** « Manuel pratique de phytothérapie », parvigot, PP.3-5.
- ❖ **Fluck H., 1977** « petit guide panoramique des herbes médicinales » Edition, Delachaux et Niestle, Paris p 98.
- ❖ **Fouché JC, Maquet A, Hambuckers A., 2000,** Les plantes médicinales. Thèse de Doctorat. Université Blaise Pascal.
- ❖ **Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rasooli I., 2007.** chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102: pp.898-904.
- ❖ **Gaillet S., Lacroix M., 2007,** « les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobienne et leur application potentielles en alimentaire » PP.1-8.

- ❖ **Ghannadi, A., Hajhashemi, V., Jafarabadi (2005)** « An investigation of the analgesic and anti-inflammatory effects of *Nigella sativa* seed polyphenols » . *Journal of medicinal food*. **8**: 488-493
- ❖ **Geoff Burine, Sue Forrester et al, 2006**, “BOTANICA”, Edition Place des victoires, Paris, , P.1020.
- ❖ **Ghedira, K. (2006)**, « La Nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) ». *Phytotherapie* , 5 : 220-226
- ❖ **Gherib,A., 1988**, “Travaux pratique de chimie thérapeutique”.
- ❖ **Gilani, A.H., Jabeen, Q., Khan, M.A.U., (2004)** « A review of medecinal uses and pharmacological activites of *Nigella sativa* ». *Pakistan journal of biological sciences*.**7**: 441-451.
- ❖ **Gilani A.H. , Mehmood M.H. , Janbaz K.H. , Khan U.A. , Saïd S.A ., 2008** « Ethnopharmacological studies on antispasmodic and antiplatelet activities of *Ficus carica* » *Journal of ethnopharmacolgy*, V.119 n°1, 1-5.
- ❖ **Gilani A.H., Shah A.J., Zubair A., Khalid S., Kiani J., Ahmad V.U., 2009**, « Chemical composition and mechanisms underlying the spasmolytic and bronchodilatory properties of the essential oil of *Nepeta cataria* L. » *Journal of ethnopharmacology*, V.121, Issue 3, 405-411.
- ❖ **Goblin, 2006** “http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nigella_sativa_from_Koeh-227.png »
- ❖ **Guignard J-L., 1996**. *Biochimie végétale*. Ed. MASSON, Paris.
- ❖ **Griffin S., 2000**. « Aspects of antimicrobial activity of terpenoids and the relationship to their molecular structure ». *Doctorante thesis*, University of Western Sydney, Sydney, Australia.
- ❖ **Hajhashemi, V., Ghannadi, A., & Jafarabadi, H. (2004)**. Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug. *Phytother Res* , 18 (3), 195-199.
- ❖ **Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.v., 1999**, « Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts » *Journal of Applied Microbiology*, V. 86. Issue 6, 985-990.
- ❖ **Harlay, A., 2004**, “Guide du préparateur en pharmacie”, Edition Masson, p 1178.
- ❖ **Hassan shamssi Pasha , 2008** « la guérison par la graine noire entre le miracle prophétique et la médecine moderne.
- ❖ **Houcher, Z., Boudiaf, K., benboubetra, M., Houcher, B. (2007)** « Effects of methanolic extract and commercial oil of *Nigella sativa* L. on blood glucose and antioxidant capacity in alloxan-induced diabetic rats ». *Pteridines*. **18**: 8-18.

- ❖ **Houghton, P.J., Zarka, R., de las Heras, B., Hoult, J.R. S. (1995)** « Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leucocytes and membrane lipid peroxidation ». *Planta Med.* **61**: 33-36.
- ❖ **Hussain A.I., Anwar F., Chatha S.A.S., Jabbar A., Mahboob S. and Nigam P.S., 2010.** *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology* 41: pp.1070-1078.
- ❖ **Iqbal,A. ,Farrukh A., Owais,M., 2006,** “Moderne phytomédecine”, Edition WILEY-VCH, PP.29-30.
- ❖ **Inouye S., Tsuruoka T., Watanabe M., Takeo K., Akao M., Nishiyama Y. and Yamaguchi H., Ahmad I., Aqil F. and Owais M 2000.** « Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs ». Ed. *WILEY-VCH* Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 405p.
- ❖ **Iserin, P. 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales. London, ypoly Edith Ybert, Tatiana Delasalle- Feat. Vol 01, 335p.
- ❖ **Jean- luc Salle , 1991** « les huiles essentielles (synthèse d’aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie) » Edition FRISON – ROCHE PP. 23. P 36.
- ❖ **Kacem, R., & Meraihi, Z. (2006).** « Effects of essential oil extracted from *Nigella sativa* (L.) seeds and its main components on human neutrophil elastase activity ». *J Pharm Soc Japan* , 126 (4), 301-305.
- ❖ **KHAN, M. (1999).** » Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn ». *Inflammopharmacology* , 7 (1), 15-35.
- ❖ **Keshavarz E., Babiuk L., G erson D et Ceschiuhi M.J., 1996** « Lignes directrices en matières de biosécurité en laboratoire ». Public health Agency of Canada 2^{eme} Ed.
- ❖ **Khanon,2012** ,« la graine de la nigelle », Paris
- ❖ **Kordali S., Kotan R., Mavi A., Cakir A., Ala A., et Yildirim A. ,2005** « Determination of the chemical composition and antioxydant activity of the essentail oil of *Artemisia dracunculus* of the antifungal and antibacterial activites of turkish *A. dracunculus* ,*Artemisia santonicum* , et *Artemisia spicigera* essential oil » *Journal of agriculture and Food chemistry*, V.53, 9452-9458.
- ❖ **Laïs, E., 2001** “L’ABCdaire des plantes aromatiques et medicinales Flammcerion”, p 27-52.
- ❖ **Lahlou M., 2004.** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18 : pp. 435-448.

- ❖ **Laurent Bourgeois, 2007**, « Le grand livre des plantes aromatiques », rustica éditions, p191.
- ❖ **Lawson-evi P., Eklu-Gadegbeku, K. Aklikokou, K. Akpagana, K. Koumaglo et Gbeassor M. (1997)**, activité hypoglycémiante de quelques plantes médicinales Centre de Recherche et de Formation sur les Plantes Médicinales, Université du Bénin. vol .9, pp. 60-69.
- ❖ **Lehir A., 1983**, « Abrège de pharmacie galénique », 4^{ème} Edition, Masson, 163 P.
- ❖ **Mahboubi Moussaoui, 2013**, « les vertus médicinales de la graine de nigelle », Edition, Sana. P.5.
- ❖ **Manou I., Bouillard L., Devleeschouwer M.J. and Barel A.O., 1998**. « Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test ». *J. Appl. Microbiol.* 84, pp. 368-376.
- ❖ **Mark W. Chase and James L. Reveal, 2009** « A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III » *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2009, **161**, 122–127.
- ❖ **Marzoukia H., Elaissib A., Khaldic A., Bouzidd S., Falconerie D., Marongiu B., Pirasa A. and Porcedda S., 2009**. « Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia » *The Open Natural Products Journal*, Vol. 2; pp. 86-91.
- ❖ **Mayachiew P. & Devahastin S., 2008**. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology* 41; pp. 1153-1159.
- ❖ **Merfort, I., Wray, V., Barakat, H., Hussein, S., Nawwar, M., & Willuhn, G. (1997)**. « Flavonoid triglycerides from seeds of *Nigella sativa* ». *Phytochemistry* (46), pp. 359-363.
- ❖ **Michel Botineau, 2010**, « botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs », Edition, TEC et DOC, P. 1335.
- ❖ **Mokkedem, A. (2004)**, « La culture de la nigelle en zone subhumide », Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, Laboratoire des ressources phytogénétiques. Alger: INRAA.
- ❖ **Morsi, N. (2000)**. « Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria ». *Acta Microbiol Pol* , 49 (1), 63-74.
- ❖ **Mutabagani A. ; EL-Mahdy S.A.M.** « Study of the anti-inflammatory activity of *Nigella sativa* L. and thymoquinone in rats ». *Saudi Pharm.J.* 1997 : 5 110-113
- ❖ **Négué Diarra. M.,(2003)** « Etude phytochimique d'une plante antipaludique utilisée au Mali : *Spilanthus oleracea* Jacq " Asteraceae" » université de BAMAKO, faculté de médecine de pharmacie et D'odonoto-stomatologie Mali, thèse de doctorat d'état en pharmacie, 78 P.

- ❖ **Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M.R., Krishina, D.R. (2001)** « Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential ». *Indian Journal of Pharmacology*. **33**: 2-16.
- ❖ **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.
- ❖ **Olle M. and Bender I., 2010.** « The content of oils in Umbelliferous crops and its formation ». *Agronomy Research* 8 (3), pp.687-696.
- ❖ **Okmu,D.E., 2005,** “Phytochemical, Vitamine and minerals contents of two Nigerian medicinal plants” *Int-J Mol Adv Sci*: 1(4) p375-381.
- ❖ **Ouattara B., Simard R.E., Holley R.A., Piette G.J.P. and Begin A., 1997.** « Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms ». *Int. J. Food Microbiol*, 37, pp.155-162.
- ❖ **Paris R. et Moyse H., 1981** « Matière médicale » tome II, Edition, Masson, PP, 134-135.
- ❖ **Paul Schauenberg-Ferdinaud, 2005,** « Guide des plantes médicinales », delachaux et niestlé, p396.
- ❖ **Pousset,J-L., 2004,** « plantes médicinales d’Afrique », Edisuol, P7.
- ❖ **Price S., Price L., Penoél D., 1999** “Aromatherapy for health professionals” Elsevier Health sciences, second edition, London, 391 P.
- ❖ **Quezel, P.et Santa, S.,1963,”** Nouvelle flore de l’Algérie et des regions désertiques méridionales”, tome 1, centre de la recherche scientifique, PP.800-801.
- ❖ **Ramadan, M.F., Mörsel, J.T. (2002)** « Characterization of phospholipid composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil ». *Nahrung Food*. 46: 240-244.
- ❖ **Saidi, B. (2012).** « La graine de Nigelle : remède sacré ou sacré remède? » Paris: Iqra et Les Quatres Sources.P.136.
- ❖ **Saidj F., 2007.** Extraction de l’huile essentielle de Thym: *Thymu numidicus*. Thèse Magister, UMBB.
- ❖ **Schnitzel P., Koch C., Reichling J., 2007,** « Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood » *American society for Microbiology Antimicrobial agents and chemotherapy*, V.50, n°5, 1859-1862
- ❖ **Seyoum, A., Asres, K., El-Fiky, F.K.(2006)** « Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids » . *Journal of phytochemistr* .**67**: 2058-2070.
- ❖ **Silano V. and Delbò M., 2008.** « Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller ». *EMEA*, European Medicines Agency. London ; 23p

*

- ❖ **Soto-Mendivil E.A., Moreno-Rodriguez. J.F., Estarron Espinosa. M. Garcia-Fajardo.J.A obledo-Vasquez.N.O. 2006,** "chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *thymus vulgaris* against *Alternaria citri*" Rvue of science and technology-Gnosis V.4 Article 16.
- ❖ **Southwell I.A., Hayes A.J., Markham J. and Leach D.N. 1993. "Acta Horticult., 344, 256–265. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M., 2006.** « Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs ». Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 405p.
- ❖ **Souza E.L., Guerr N.B., Stamford T.L.M. and Lima E.O., 2006.** « Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation ». *Rev. Bras. Farm.*, 87 (1), pp. 22-25.
- ❖ **Sylvestre M., Pichette A., Longtin A., Nagau F., Legault F.2006.** « Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L". from Guadeloupe » Journal of ethnopharmacology V.113, 99-102.
- ❖ **Tchamdja K.M.,1995,** « Etude de performance d'un extracteur artisanal pour la production d'essence de citronnelle. Mémoire d'ingénieur des travaux biologiques, ESTBA, UB, 95 p.
- ❖ **Teuscher, E., Anton, R., Lobstein-GUTH, A., (2005).** *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles* Lavoisier, technique et documentation, PP,3, 343-337.
- ❖ **Tieli, B. 1997.** L'herbier de santé. 1^oédition, Paris, édition VECCHI SAO, P.206
- ❖ **Tuter. M., Aksoy, H.A., Ustun, G., Riva, S., Secundo, F., Ipekler S. (2003)** « Partial purification of *Nigella sativa* L. seed lipase and its application in hydrolytic reactions. enrichment of γ -linolenic acid from borage oil ». *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 80: 237-241.
- ❖ **Upadhyay R.K., Dwivedi P. and Ahmad S., 2010.** « Screening of antibacterial activity of six plant essential oils against pathogenic bacterial strains ». *Asian Journal of Medical Sciences* 2 (3) : pp.152-158.
- ❖ **Valant, 1970,** « les préparations aux huiles essentielle »
- ❖ **Verdrager, J. 1978.** « Ces médicaments qui nous viennent des plantes ». 1^oédition, Paris, édition Maloine S.A., vol.01, 233p.
- ❖ **Willem.J.P, 2004,** « les huiles essentielles médecine d'avenir » . Duphin, troisième édition, Paris, P. 318.
- ❖ **Wolfgang Hensel, 2008,** « 350 plantes médicinales » Edition, delachaux et niestlé, P. 100.

- ❖ **Yang Y.C., Lee H.S., Marshall clark J., Joon Ahn Y., 2005**, « Ovicidal and aduIticidal activites of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil compounds and related compounds against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculicidae) » *Interntional journal for parasitology*, V.35, Issue 14,1595-1600.

- ❖ **Zaika L.L., 1988**. Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its Determination. *Journal of Food Safety*, **9**, 97-118

Annexes

Petit matériel et verrerie

- Bécher
- Bocaux
- Bec bunsen
- Boite de pétri
- Ballon
- Disque bactérienne stérile
- Erlenmeyer
- Fioles
- Gant
- Glucomètre et bandelettes réactives (Contour Ts)
- Micropipette
- Milieu de culture
- Papier aluminium
- Papier filtre
- Pipette
- Pince
- Pissette
- Poire
- Tube à essai

Appareillage

- Bain marie
- Balance électrique
- Balance pour animaux
- Agitateur magnétique
- Autoclave verticale

- Chauffe ballon
- Etuve 37 C° et 120 C°
- Haute

Produits et réactifs

- Acétate de plomb
- Acide chlorhydrique N
- Acide phosphomolybdique
- Acide sulfurique
- Ammoniaque
- Chloroforme,
- Copeaux de Mg,
- Eau distillé,
- Ether
- Éthanol absolu
- FeCl₃ 5%
- Iode
- HCl
- Hydroxyle d'ammoniac
- KOH
- Mélange de propanol / acide chlorhydrique
- Réactif de valser Mayer

Matériel utilisé en laboratoire



Pied à coulisse



Etuve 35 C°



Agitateur



la haute



Matériel utilisé en microbiologie

Tableau 11 : Teste de Corrélations de l'activité anti-inflammatoire (SPSS)

		AVANT	AP30	AP60	AP90	AP120	AP150	AP180
Lot 1	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	1	,598	,649	,444	,420	,393	,351
Lot 2	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,598	1	,869(*)	,866(*)	,890(**)	,886(**)	,878(**)
Lot 3	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,649	,869(*)	1	,965(**)	,952(**)	,943(**)	,927(**)
Lot 4	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,444	,866(*)	,965(**)	1	,989(**)	,987(**)	,983(**)
Lot 5	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,420	,890(**)	,952(**)	,989(**)	1	1,000(**)	,997(**)
Lot 6	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,393	,886(**)	,943(**)	,987(**)	1,000(**)	1	,999(**)
Lot7	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,351	,878(**)	,927(**)	,983(**)	,997(**)	,999(**)	1

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).(5%)

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).(1%)

Tableau 12: les moyennes de corrélation

Les lots	Moyenne de corrélation
Lot 1	0.475
Lot 2	0.898
Lot 3	0.942
Lot 4	0.965
Lot 5	0.971
Lot 6	0.969
Lot 7	0.964