

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
**Département biologie des populations et des organismes Mémoire de fin
d'étude**

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Biodiversité et Physiologie Végétale.

Filière : Sciences Biologiques.

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

**Caractérisation morphologique et étude de l'effet salin sur la
variation de la teneur en métabolites secondaires et sur le pouvoir
antioxydant de *Nigella sativa L***

Présentées par:

- Taoug iméne
- Tagrerout fatma zohra

Devant le jury:

Soutenues le 30/09/ 2020

Présidente du jury	Dr CHERIF H.S	MCA	UDB1
Examinatrice	Dr AMEDJKOUH H	MAA	UDB1
Promotrice	Dr BEN MANSOUR N.	MCB	UDB1
Co promoteur	DR SMAIL.H		

Année Universitaire : 2019/2020



سُبْحَانَكَ اللَّهُمَّ رَبِّ السَّمَاوَاتِ السَّبْعِ وَالْأَرْضِ وَالْعَرْشِ الْعَظِيمِ



REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire, je remercie Dieu et louange à Allah le tout puissant et miséricordieux qui m'a guidé dans la voie du savoir et de la connaissance scientifique et permis de mener à bien ce modeste travail.

Nous tenons à remercier vivement ainsi que notre reconnaissance à notre promotrice, Docteur BENMANSOURN, enseignante au département BPO de la faculté SNV de l'Université Saad Dahlab Blida 1, qui nous a encadrées et dirigées ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous accordé nous ont permis de réaliser ce travail qu'elle trouve ici notre profonde reconnaissance pour ses encouragements, ses recommandations et sa bienveillance.

Également, nous remercions vivement les membres du jury qui ont bien voulu présider ce mémoire, notamment :

Docteur CHERIF H.S, Enseignante au département BPO, Faculté SNV de l'Université Saad Dahlab Blida 1, qui a bien voulu accepter la présidence du jury de ce mémoire. Quelle trouve ici toute notre reconnaissance et l'expression de nos sincères remerciements et soyez rassuré de notre profonde gratitude.

Docteur AMEDJKOUH H, enseignant au département BPO de la Faculté SNV de l'Université Saad Dahlab Blida 1. Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire et pour l'intérêt que vous portez à notre travail ainsi que le temps consacré afin de l'évaluer. Veuillez trouver ici toute notre reconnaissance et notre dévouement.

Nous remercions également toutes les équipes, et le personnel des différents services du groupe Saidal Gue De Constantine, qui nous ont aidé et permis de réaliser ce présent travail.

je tiens à remercier Docteur SMAIL. H, Co promoteur du CRD / SAIDAL d'avoir accepté de diriger ce travail. Toute ma reconnaissance pour ses précieux conseils et son aide permanente durant toute la période du travail expérimental au sein de son laboratoire de microbiologie. Son esprit scientifique et sa pédagogie expérimentale nous a permis de nous motiver pour la critique, l'esprit d'analyse et la recherche scientifique. Qu'il trouve ici ma profonde gratitude.

Un grand merci, pour toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail. Quelle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

Dédicace



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

*A mon chère père « **Mohammed** » mon sens de l'honneur de la responsabilité.*

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

Merci d'avoir toujours avec moi, sans votre amour et votre soutien je ne serais jamais arrivé là où je suis.

je vous aime que Allah vous protège.

*A mes charmantes sœurs **Nessrine** , **Fatiha** , **Razika** , **Achwak** , **Bouchra** , Mes neveux **Razan** , **Rahma** , **Loay Daoud** les signes de notre joie .A mes beaux frères*

Mohammed et Brahim

A tous mes amis sans exception surtout les amis d'étude du groupe de master Bvp de Ma promotion 2019- 2020 Merci pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

*A ma chère amie et ma sœur **Imène** et toute la famille Taoug*

*A mon fiancé **Walidet** à sa famille Otmani*

*A mes copines **Najwa** , **Akila** , **Halima** , **Mariam** , **Sanaa** , **Safia***

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

Fatma Zohra

Dédicace



Je remercie tout d'abord mon dieu le tout puissant qui m'a donné la volonté, la force et le courage pour réaliser ce modeste travail.

*J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parents. A mon père **Mohamed** et ma mère **Hafida** le grand cœur sur la terre de m'avoir aidé avec leurs conseils et leur soutien moral, en espérant que dieu leur donne la santé.*

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à :

*Mon meilleur frère **hamza***

*Ma cher sœur **Nessrine***

*Ma tante : **Amina***

Mes cousines et cousins

A tous ceux qui portent le nom Taoug et Kerkouba

*A mon binôme ma chéré Fatima Zohra qui sans elle ce travail n'aurait pas finis, on a passé des moments agréables et des autres aussi incroyables mais dieu merci, notre amitié et notre amour était et sera au-dessus de tous les obstacles, je t'aime **zola**.*

***Kh.t** une personne qui occupe une grande valeur dans ma vie, je lui souhaite toute la réussite ainsi que le bonheur et la santé.*

A toute ma promotion 2019 – 2020

A ma cher amie nerimen et tous mes amis et tous ceux qui m'aiment

Je vous adore.....

Taoug imene

RESUME

Ce mémoire a porté sur l'étude d'une plante médicinale, *Nigella sativa L.* en provenance de deux localités différents : Région de Timimoune et Région Syrienne.. Les objectifs visés consistent essentiellement à mettre en exergue l'effet de certains paramètres expérimentaux sur la variation quantitative et qualitative des composés phénoliques de l'espèce étudiée d'une part et, sur son pouvoir antioxydant et antibactérien d'autre part.

L'examen phytochimique des extraits des graines de *Nigella sativa La* divulgué la présence d'une quantité importante des flavonoïdes, des tannins et des stérols dans les deux régions. Les saponines, les quinones et les coumarines sont présentes seulement dans les graines la région de Timimoune avec une quantité moyenne. Cependant les terpènes, les anthocyanes et les glycosides sont absents dans les graines des deux régions.

La concentration des polyphénols dans l'extrait méthanolique de Timimoune renferme $40 \pm 0,20$ mg EAG/ g d'extrait. Elle est très supérieure à celle de l'extrait de la région de Syrie ($02 \pm 0,30$ mg EAG/ g d'extrait). La teneur en flavonoïdes se montre faible dans l'extrait de Timimoune ($03 \pm 0,56$ mg EQ / g d'extrait) et surtout dans la région de Syrie ($0.35 \pm 0,21$ mg EQ / g).

L'extrait Méthanolique des graines de Timimoune et de Syrie pouvaient ramener le radical libre stable 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec des IC50 respectives 0.45 mg/ml (450 ug/ml) et 0.65mg/ml (650 ug /ml). Ces dernières sont inférieures à celle de B HA (0.02mg/ml (20 ug /ml). Cependant, on remarque que l'IC50 d'extrait e Timimoune est inférieure à celle d'extrait de la Syrie. Donc l'extrait Méthanolique de Timimoune exhibe une activité antioxydante importante par rapport à celle de la région de Syrie.

La Méthode d'Antibiose a énoncé que les huiles essentielles des graines de Timimoune et de la Syrie présentent une activité antibactérienne importante vis-à-vis des bactéries *Staphylococcus aureus* (28 mm) et des *Bacillus subtilis* (31 mm). Les bactéries Gram- : *Pseudomonas aerogenosa* (9.35mm) et *E coli* (10.35mm) dévoilent une sensibilité faible à l'encontre des huiles essentielles des deux stations.. L'étude de l'activité antifongique a montré la résistante des souches fongiques *Candida albicans* et *Saccharomyce cerevisiae* à l'encontre des huiles des deux régions.

Mots clés : *Nigella sativa L.*, screening phytochimique, métabolites secondaires (polyphénols et flavonoïdes), activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

This thesis focused on the eco-biochemical study of a medicinal plant, *Nigella sativa* L. from two different localities: Timimoune Region and Syrian Region. The objectives of the study were essential to highlight the effect of certain environmental and experimental parameters on the quantitative and qualitative variation of phenolic compounds of the species studied on the one hand and, on the other hand, on its antioxidant power.

The results show that there are significant differences between the extracts and essential oils of *Nigella sativa* L. harvested in the Syrian region (semi-arid climate) and Timimoune region (hybrid-arid climate).

Phytochemical examination of the extracts from the seeds of *Nigella sativa* L. revealed the presence of a significant amount of flavonoids, tannins and sterols in both regions. Saponins, quinones and coumarins are present only in seeds from the Timimoune region with an average amount. However terpenes, anthocyanins and glycosides are absent in the seeds of both regions.

The concentration of polyphenols in Timimoune's methanolic extract contains 40 ± 0.20 mg EAG/ g extract. It is much higher than the extract from the Syrian region (02 ± 0.30 mg GGE/g extract). The flavonoid content is low in the Timimoune extract (03 ± 0.56 mg EQ/ g extract) and especially in the region of Syria (0.35 ± 0.21 mg EQ/ g extract).

Methanolic extract from Timimoune and Syrian seeds could reduce the stable free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) to yellow-colored diphenylpicrylhydrazine with respective IC₅₀s of 0.45 mg/ml (450 µg/ml) and 0.65 mg/ml (650 µg/ml). The latter are lower than that of BHA (0.02 mg/ml (20 µg/ml)). However, the IC₅₀ of Timimoune extract is lower than that of the extract from Syria. Therefore, Timimoune Methanolic extract shows a significant antioxidant activity compared to that of the Syrian region.

The Method of Antibiosis stated that the essential oils of Timimoune seeds and Syria have an important antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (28 mm) and *Bacillus subtilis* (31 mm). Gram-: *Pseudomonas aeruginosa* (9.35 mm) and *E. coli* (10.35 mm) show a low sensitivity against oils of the two stations... The study of the antifungal activity showed the resistance of the fungal strains *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae* against the oils of both regions.

Keywords: *Nigella sativa* L., phytochemical screening, secondary metabolites (polyphenols and flavonoids), antioxidant activity, antibacterial activity

المخلص

ركزت هذه الأطروحة على الدراسة البيوكيميائية لنبتة طبية *Nigella sativa* L. من موقعين مختلفين: منطقة تيميمون ومنطقة سوريا. وتتمثل الأهداف المستهدفة بشكل أساسي في إبراز تأثير بعض العوامل البيئية والتجريبية على التباين الكمي والتنوع للمركبات الفينولية لأنواع المدروسة من ناحية، وقوتها المضادة للأكسدة من ناحية أخرى.

أظهرت النتائج وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين مستخلصات نبات *Nigella sativa* L. والزيوت الأساسية التي تم حصادها في المنطقة السورية (المناخ شبه الجاف) ومنطقة تيميمون (المناخ الهجين الجاف).

أظهر الفحص الكيميائي النباتي لمستخلصات *Nigella sativa* L. وجود كميات معنوية من مركبات flavonoïdes و tannins و stérols في كلا المنطقتين. توجد saponines و quinones و coumarines فقط في بذور منطقة تيميمون بكمية متوسطة. ومع ذلك فإن glycosides و anthocyanes و terpènes غائبة في بذور كلا المنطقتين.

يحتوي تركيز polyphénols في المستخلص méthanolique من تيميمون على 0.20 ± 40 مجم EAG / جم من المستخلص. وهو أعلى بكثير من مستخلص منطقة سوريا (0.30 ± 02 مجم EAG / جم من المستخلص). يظهر محتوى flavonoïde منخفضاً في مستخلص تيميمون (0.56 ± 03 ملجم EQ / جم من المستخلص) وخاصة في منطقة سوريا (0.21 ± 0.35 ملجم EQ / جم).

يمكن للمستخلص Méthanolique لبذور تيميمون وسوريا أن يعيد الجذور الحرة المستقرة 2.2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) إلى اللون أصفر مع IC50s لكل منها 0.45 مجم / مل (450 ميكروغرام / مل) و 0.65 مجم / مل (650 ميكروغرام / مل). هذا الأخير أقل من 0.02 (B HA) مجم / مل (20 ميكروغرام / مل) ومع ذلك، نلاحظ أن IC50 للمستخلص من التيميمون أقل من المستخلص من سوريا، لذا فإن المستخلص Méthanolique من تيميمون نشاطاً مهماً مضاداً للأكسدة مقارنةً بتلك الموجودة في منطقة سوريا.

ذكرت طريقة Antibiosis أن الزيوت العطرية لبذور تيميمون وسوريا لديها نشاطاً مضاداً للبكتيريا منها: bactéries Staphylococcus aureus (28 mm) و Bacillus subtilis (31 mm). بكتيريا جرام-: Pseudomonas aerogenosa (9.35 mm) و E coli (10.35 mm) حساسية منخفضة للزيوت للمحطتين. أظهرت دراسة النشاط المضاد مقاومة كل من السلالات الفطرية Candida albicans و Saccharomyce cerevisiae ضد زيوت كلاهما المناطق.

لكلمات المفتاحية: *Nigella sativa* L، الفحص الكيميائي النباتي، المستقبلات الثانوية (البوليفينول والفلافونويد)، النشاط المضاد للأكسدة النشاط المضاد للبكتيريا.

Listes des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau01	Composition des graines de <i>Nigella sativa</i> (Al –jassir ,1992).	13
Tableau02	Localisation et texture du sol des deux stations d'étude .	20
Tableau03	Taux de précipitations du région de Timimoune (2010 à 2019)	Annexe
Tableau04	Taux de précipitations du région de Syrie(2010 à 2019)	Annexe
Tableau05	Taux de températures du région de Timimoune (2015 à 2019)	Annexe
Tableau06	Taux de température du région de Syrie (2015 à 2019)	Annexe
Tableau07	Microorganismes-cible utilisés et les principales maladies qu'ils peuvent causées.	24
Tableau08	Screening phytochimique (Harborne ,1998 ; Raaman et al. 2006).	26
Tableau9	estimation de la sensibilité des souches.	33
Tableau10	Résultats du screening phytochimique de <i>Nigella sativa</i> L. récoltée dans les deux régions (Timimoune et Syrie).	36
Tableau11	Les résultats de l'étude qualitative : détermination des diamètres des zones d'inhibition	43
Tableau12	les résultats de l'étude quantitative : détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).	45

Listes des figures

Numéro	Titre	Page
Figure01	Classification botanique selon Bentham Hooker(Ozenda,2000 ; Spichiger,2002).	04
Figure02	Les feuille ,les fleurs et les graines des 04 espèces de <i>Nigella L.</i>	
Figure03	<i>Nigella sativa L.</i> (plante entière, fleurs et graines).	09
Figure04	Représentation de la répartition géographique de <i>Nigella sativa L.</i>	11
Figure05	structure chimique de thym quinone.	14
Figure06	précipitation moyenne mensuelle en (mm) de la station de Timimoune (2015-2020) (données obtenues d'Office Nationale de la Météorologie de Dar El Beida Alger).	21
Figure07	précipitation moyenne mensuelle en (mm) et Variation des températures de la Syrie (2015-2020).	22
Figure08	Variation des températures de la station de Timimoune (2015-2020) (données obtenues d'Office Nationale de la Météorologie de Dar El Beida, Alger .	23
Figure09	<i>Nigella sativa L</i> (plante entière, graine, poudre, huile).	24
Figure10	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	28
Figure11	Courbe d'étalonnage de la quercétine.	29
Figure12	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.	29
Figure13	Rendements de la masse des extraits secs des échantillons <i>Nigella sativa L</i> récoltée dans deux régions différentes (Timimoune et Syrie).	35
Figure14	Les résultats du dosage des poly phénols totaux et des flavonoïdes condensés dans les extraits méthanoliques de <i>Nigella sativa L.</i> récoltée dans deux régions différentes (Timimoune et Syrie)	39
Figure15	Pourcentage d'inhibition de BHA (Hydroxy anisole butylé)	40
Figure16	Pourcentage d'inhibition d'extrait Méthanoliques de <i>Nigella sativa L</i> récoltée dans deux régions différentes et de BHA (Hydroxy anisole butylé).	40
Figure17	IC50 en ug/ml de BHA (Hydroxy anisole butylé) et des extraits Méthanoliques de <i>Nigella sativa L.</i> récoltée dans deux régions différentes (Timimoune, Syrie)	42

Liste des abréviations

AlCl₃ :	Chlorure d'aluminium
ASG :	L'Acylatesteryl glucoside
ATCC :	American type culture collection
CCM :	Chromatographie sur couche mince
CER :	Galactocérébroside
CMI :	concentration minimale inhibitrice
CPG :	Chromatographie en phase gazeuse
DGD :	Diglucoxyldiacylglycérol
DL₅₀ :	Dose létale 50%
DPPH :	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
EG :	Extrait des gousses
EGr :	Extrait des graines
ROS :	reactive oxygen species
HDL :	High Density Lipoproteins
HPLC :	high performance liquid chromatography
LDL :	Low Density Lipoprotein
MGD :	Monoglucoxyldiacylglycerol
PL :	Phospholipides
PP :	Polyphénols
SQD :	Sulfoquinovosyldiacylglycérol
TQ :	Thymoquinone
TSA :	Tryptycase soja agar
TSB :	Tryptycase soja bouillon

Sommaire

Introduction	01
Première partie : Synthèse Bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur <i>Nigella sativa L</i>	
I.1. Généralités	03
I.2. Historique	04
I.3. Systématique	04
I.4. Etymologie	05
I.5. Différentes espèces de nigelle L.	05
I.6. Présentation générale de l'Espèce <i>Nigella sativa L</i> .	06
I.6.1. Classification :	08
I.6.2. Description botanique	08
I.6.3. Conditions écologiques	09
I.6.4. Origine et distribution	09
I.6.5. Culture	10
I.6.6. Situation économique actuelle	11
I.6.7. Utilisations	11
I.6.8. Toxicité	12
I.6.9. Composition chimique des graines de la plante	12
I.6.10. Activité antioxydante	15
I.6.11. Travaux antérieurs	16
Partie II : Etude Expérimentale	
Chapitre I : Matériel et méthodes	
I- Matériel et Méthodes	
I-1-Choix, localisation et climatologie des deux stations d'étude	20
I-2- Matériel	23
I.2.1. Matériel végétal	23

I.2.2.matériel microbien	24
I-3-Méthodes	25
I.3.1 Préparation des extraits	25
I.3.2.Screening phytochimique	26
I.3.3. Caractérisation quantitative des extraits	27
I.3.3.1.Dosage des Poly-phénols et des flavonoïdes	27
I.3.4 Activité anti-oxydante (in vitro)	29
I.3.5 Activité anti bactérienne	30
I.3.5.1.Préparation des échantillons	30
Chapitre II : Résultats et Discussions	
II.1.Rendement des Huiles essentielles des deux régions	35
II.2. Screening Phytochimique	35
II.3. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes	38
II.3.1. Dosage des polyphénols	38
II.3.2. Dosage des flavonoïdes	38
II.4.Activité antioxydante de l'extrait Méthanolique de <i>Nigella sativa L.</i>	39
II.4.1.Détermination du pourcentage d'inhibition du radical DPPH	39
II.4.2. Détermination d'IC50	40
II.5. Activité antibactérienne	42
Conclusion	44
Références bibliographique.	
Annexe	

Introduction

Introduction

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 sont produites à l'échelle mondiale principalement par l'Inde et le Pakistan et constituent une source importante d'huile végétale utilisée dans le domaine pharmaceutique et médicinal. (**mokkedam ,2004 ;bousbia , 2004 et benkaci , 2007**).

Le Prophète Mohamed (QSSSL) 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 (**Ghedira ,2010**).

La culture de la nigelle est peu développée en Algérie, elle est cultivée uniquement à l'échelle traditionnelle principalement dans les régions d'Ouargla, de Biskra, de Timimoune, d'Adrar, et de Skikda. La production nationale des graines oléagineuses est très insuffisante. Les besoins de consommation sont couverts par les importations, à titre d'exemple en 2007 l'Algérie a importé plus de 1700 tonnes de graines oléagineuses dont la nigelle (Zouaghi N ,1985 ;Mokkedem,2004).

Les vertus médicinales de la *Nigella sativa* L. ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche, principalement pharmacologiques, qui ont effectivement prouvé scientifiquement une bonne partie de ces propriétés curatives (**Attia, 2003 ; Ramadan et Morsel, 2004 ; Cheikh Rouhou, 2006 ; Benkaci, 2007**).

De nombreuses publications scientifiques paraissent régulièrement, que ce soit pour étudier la composition chimique des graines de Nigelle et de ses extraits, ou pour explorer le champ de ses possibilités thérapeutiques. A l'heure actuelle, de nombreuses équipes de recherche de par le monde s'intéressent de près aux différentes vertus de *Nigella sativa* L. et de ses composants, dont la thymoquinone qui suscite un intérêt tout particulier et qui se trouve être le sujet d'innombrables publications scientifiques (**Atta et Al,2003**).

Le *Nigella sativa* L. est une source très riche en métabolites secondaires que l'on rencontre dans les graines . Elle est largement utilisée dans le bassin méditerranéen pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. Sur le plan chimique le *Nigella sativa* L. est riche en di terpènes, en phenyléthanoïdes, en gluosidiques, en tanins, en saponines en polyphénols et en flavonoïdes (Doepke V et Fritsch A,1970 ;Tillequin F et al.,1976 ;Lebre ton P,1986). Malheureusement la teneur de ces composés chimiques et surtout celle des

Introduction

poly phénols et des flavonoïdes varie d'une pays à une autre et elle peut même être négligeable dans certaines pays surtout dans des pays humide et hyper-humide.

Peu d'études ont élucidé l'étude phytochimique et l'étude du pouvoir antioxydant de *Nigella sativa L.* entre deux biotopes différents et ayant un climat différent. C'est ce qui nous a incités, à travers ce travail, à évaluer la qualité, la quantité des métabolites secondaires plus particulièrement les polyphénols et l'activité antioxydante à partir d'extraits des graines de *Nigella sativa L.* croissant dans la Timimoune caractérisée par un climat hyper aride et dans le pays Syrienne possédant un climat semi -aride.

Notre mémoire est structurée en trois parties. Une partie bibliographique portant sur une synthèse des données relatives à notre thématique. Une seconde partie expérimentale, qui décrit les démarches méthodologiques, en abordant le screening photochimique, le dosage des métabolites secondaires (les poly phénols et les flavonoïdes) des extraits des graines de *Nigella sativa L.* et l'évaluation de leur activité biologique (activité antioxydante et activité antibactérienne). Dans la dernière partie, la discussion des résultats obtenus est rapportée.

Enfin, une conclusion relatant l'essentielle des résultats, accompagnée de perspectives concluant notre manuscrit.

Première partie :
Synthèse Bibliographique

Chapitre I :
Généralité sur espèce Nigelle

I.1. Généralités

Du latin nigellus “noirâtres”, la nigelle nous offre ses petites graines aromatiques menées d'une noire intense communément connues sous le nom de « cumin noir », black seed en Anglais, Habbat el baraka ou encore El habbahsauda dans les pays arabes, Sinoudjen Algérie (Ghedira,2006).

Parmi les graines condimentaires et médicinales les plus importantes utilisée en Algérie la *Nigella sativa*(Chopra *et al* ,1956 ; Nadkarni,1967). La graine noire fait partie de la famille des Renonculacée. Comme le nom suggère, la minuscule (2-4-mm de long), noir en forme de bateau Les graines sont utilisées dans l'alimentation et la médecine. Le beau blanc ou Les fleurs bleues ont des sépales et des feuilles finement divisées. Cette plante est largement cultivée et peut être cultivé comme une plante de jardin annuelle dans de nombreuses régions . (Yarnell, 2011).

L'origine de *Nigella sativa* L. n'est pas bien établie. La plante était certainement largement cultivée il y a plus de 3000 ans. La *Nigella sativa* est inhérente à l'Europe du Sud-Est, à l'Afrique du Nord et à l'Asie du Sud-Ouest. Il est cultivé dans des pays tels que la région méditerranéenne du Moyen-Orient, l'Europe du Sud, l'Inde, le Pakistan, Oman, l'Arabie saoudite, Israël, la Syrie et la Turquie (Gilani *et al* (2004) et Khare (2004).

Nigella sativa L.est une plante rustique de saison fraîche, température optimale de 15°C et une gamme de 5 à 25°C. Elle pousse en plein soleil sur une large gamme de sol bien drainés à pH6-7 mais préféré le sable sol limoneux, elle est assez tolérante à la sécheresse et peut survive sans des sols secs mais nécessite un arrosage régulier pendant les périodes de sécheresse prolongée (lim ,2013).

I.2 Historique :

La Nigelle est l'une des plus utiles des herbes qui sont considérées comme une vraie panacée pour promouvoir la santé et le traitement d'un large éventail de maladies depuis plus de 2000 ans (Darakhshan *et al* ,2015).

La tradition historique de graine noire dans la médecine est substantielle et religieuse. Les graines de *Nigella sativa* ont été prescrites par le docteur égyptien et grec ancien lequel cites son nom pour traiter certaines maladies, notamment les maux de tête, la congestion, les maux de dents, les vers intestinaux et comme diurétique pour favoriser les menstruations et augmenter la production laitière (Goreja ,2003).

Le prophète Mohammed (la paix est sur lui) a dit : ' **utilisez cette graine Noire ; elle a une cure pour chaque maladie sauf la mort** ' (**Sahih Bokhari**)

La nigelle a été trouvée sur la tombe de Toutankhamon, elle était considérée par les égyptiens de l'antiquité comme une panacée. Chez les grecs anciens, la nigelle était considérée comme un remède précieux dans le traitement des affections hépatique et digestives. Pour Discordes (médecine Grec du premier siècle et auteur de De Materia Medica). Les graines de nigelle étaient utilisées pour traiter les maux de tété, les algies dentaires, la congestion nasale et pour combattre les vers intestinaux comme diurétique, pour favoriser les menstruations et comme galactagogues (**Ghedira, 2006**).

C'était l'une des plantes les plus précieuses qu'était connu et utilisé par les anciens Romains et grecs .Elle est également utilisée en ayurvédique (**Jadhav et al .,2005**).

Les petites graines noires ont suscité un vif intérêt pour la recherche scientifique qui a donné lieu à des recherches pour décrire son nature et de prouver son spectre d'activité biologique (**Bourgou et al., 2008**).

Dans la Bible, *Nigella sativa* est identifiée comme étant « le cumin noir curatif » (**Ghedira, 2006**).

I.3 Systématique :

La famille des renonculacées comprend une trentaine de genres et environ 1200 espèces (**Neger, 1962**) (**Figure N°1**)

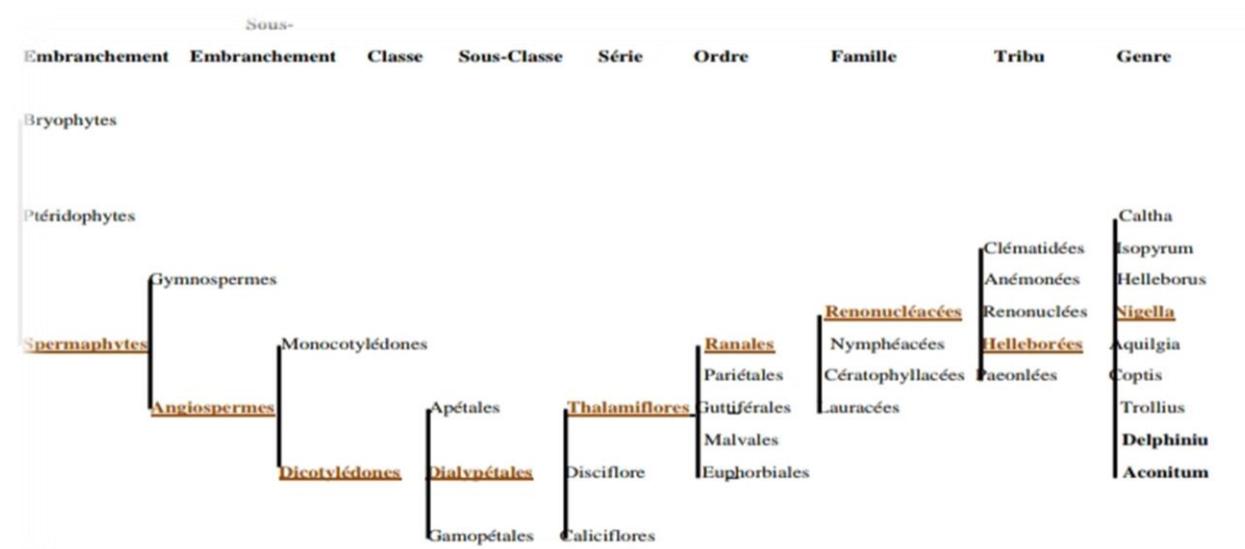


Figure 1 : Classification botanique selon Bentham et Hooker(**Ozenda,2000 ;Spichiger,2002**).

I.4. Etymologie

La graine de nigelle est connue dans le monde sous différents noms ; Nom scientifique : *Nigella Sativa* L.

Noms Vernaculaires : Sanouj, sinouj, kemmouaçonel, habbaes'souda, kammounchedhaf, chith, kahta, bounefa, zerara, el khal, tikaminin, habet el Baraka.

Noms allemands : Echter Schwarz kumamel, Rômischer hummel.

Noms anglais: Black Cumin, Black seeds, Small garden fennel, Fennelflower.

Noms français : Nigelle cultivée, Cumin noir, Graine noire, Araignée, Tout épice, Nielle, Faux cumin, Quatre épices.

La graine de nigelle possède plusieurs autres espèces telles que la *Nigella damascena* (Antuono *et al.*, 2002), la *Nigella arvensis*, la *Nigella gallica*, la *Nigella orientalis* et la *Nigella hispanica*.

Il convient de souligner que la *Nigella sativa* est de loin la plus abondante et la plus cultivée à l'échelle mondiale et locale, dotée de pouvoirs médicinaux importants, elle est très appréciée en tant que condiment sous forme de graine ou d'huile extraite.

Les autres espèces, *Nigella arvensis* et *Nigella damascena*, sont pratiquement indisponibles sur le marché et dans les champs de culture. Elles sont plutôt localisées dans des endroits isolés à l'état sauvage (Benkaci, 2007).

I.5. Différentes espèces de nigelle L.

Les nigelles sont des plantes herbacées annuelles au feuillage finement découpé de la famille des Renonculacées, appartenant au genre *Nigella* (du latin « *nigella* » lui-même de « *niger* » signifiant noir¹ en référence à la couleur des graines des espèces de ce genre²). Il en existe **une vingtaine d'espèces**, toutes originaires d'Eurasie. Certaines étaient autrefois consommées, en graines ou comme épices, ou le sont encore dans certains pays d'Orient ou cultivées comme espèces ornementale (Couplan, 2012). Les espèces les plus étudiées sont 05 espèces : *Nigella damascena*, *Nigella hispanica* L., *Nigella arvensis* L ; *Nigella orientalis* L et *Nigelle sativa* L.

A-*Nigella damascena* :

Les feuilles : sont alternes, extrêmement divisées en minces lanières aliformes, vaporeuses, plumeuses, et de couleur vert vif.

Le fruit : (ou la gousse de graines) qui évolue au centre de la fleur est surmonté des filaments qui ne sont que les styles des pistils cette gousse prend la forme de capsule globuleuse, arrondie, poly folliculaire virant au brun à maturité ; chaque follicule renferme de petites graines. Les sépales des fleurs de *la nigella damascena* sont de couleur bleu, bleu clair (pâle), rose, violet et blanc. Les pétales sont environ de 8 plus petites que les sépales.

Les Graines sont noires, d'où le nom arabe de la plante (la fleur de la graine noire حبّة سوداء). ces graines sont ovoïdes, à 3 faces avec des stries transversales (**Jansen,1999**)(**Tableau 1**)

***B-Nigella hispanica* L.**

La fleur est solitaire, 3,5-7 cm de large, bleu ciel, entourée d'une couronne de bractées aliformes, périanthe simple, à 5 tépales étroits-elliptiques, nettement Onguiculés, nectaires bilabiés, foncées. Les étamines sont toujours visibles rouge violet foncé.

Le fruit est moins gonflé, plus nervuré que *N. damascena* L. folliculaire ; carpelles unis aux deux tiers de leur longueur. Style de cornes généralement horizontal.

Les Graines sont brunâtres Différentes en taille et en couleur comparées aux graines noires des autres espèces des nigelles (**kokoska,2011**)(**Tableau N°1**)

***C-Nigella arvensis* L.**

Les feuilles caulinaires abondamment pennée en segments très étroits, feuilles sont deux à trois fois pennées, les feuilles terminales sont plus petites.

Les fleurs sont solitaires à l'extrémité de la tige, avec 5 sépales pétaloïdes de 10-15 mm, bleu clair, spatulés. Nectaires plus courts, en forme de gobelets, pointus, avec la lèvre inférieure bilobée.

Le fruit est une capsule lisse, assez grand et étroite, non gonflé, avec des styles dressés raisonnablement 5 à 8 follicules unis jusqu'à la moitié.

Les graines sont finement granuleuses (**Hess et al,1976-1980**) (**Tableau N°1**)

***D-Nigella orientalis* L.**

La fleur est plus petite, de couleur jaunâtre. Le calice est divisé en 5 folioles onguiculées, terminées par une lame ovale, aigüe aux deux extrémités. Les pétales sont tubulés, de pourpre en dessous, très courtes, au nombre de 8-10

Les carpelles des fruits généralement un peu plus longs que les becs. 12 à 14 follicules des fruits sont comprimés et plat, et reliés environ la moitié de leur longueur, ce qui est à peu près égale à celle des modèles ci-joints.

Les graines sont aplaties et environnées d'une aile membraneuse (Amarck, 1816)(Figureur 2)

Figureur 2 : Les feuilles, les fleurs et les graines des 04 espèces de Nigelle L. (Bonnier,1990 ; Ghedira, 2006 ; Kokoska, 2011).

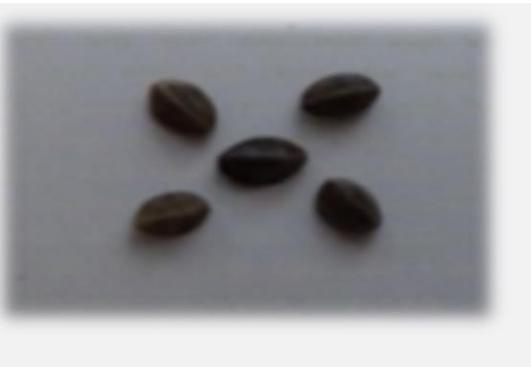
Feuilles et fleurs



Graines



Nigella damascena :



Nigella hispanica L



Nigella arvensis L

*Nigella orientalis* L

I.6. Présentation générale de *Nigella sativa* L.

La nigelle ou *Nigella* L. est un petit genre de plantes herbacées dans la famille des Renonculacées, comprend environ 14 espèces. Certaines d'entre elles étant d'une importance économique, elles sont utilisées comme épices, plantes médicinales et plantes ornementales.

I.6.1. Classification :

Régne :	Plantae
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Ranunculales
Famille :	Ranunculaceae
Genre :	Nigella
Espèce :	<i>Nigella sativa</i>.L

I.6.2. Description botanique:

C'est une petite herbe annuelle prostrée d'environ 45 cm de haut 2-3 feuilles minces pindarisées, coupées de 2-4 cm de long en segments linéaires, segments oblongs. Fleurs pâles, bleues sur de longs pédoncules solitaires, graines trigonales et de couleur noire. La plante a une tige plutôt rigide, érigée et ramifiée, porte des feuilles d'un vert grisâtre profondément découpées feuilles et les fleurs terminales gris-bleu, suivies par des vaisseaux à graines impairs et dentés, remplis de petites des graines quelque peu comprimées, généralement à trois coins, avec deux côtés plats et un côté convexe, noires ou brun externe blanc et oléagineux, forte odeur

aromatique agréable, comme celle des noix de muscade, et un goût piquant et épicé. Les fleurs sont délicates et généralement de couleur bleu pâle et blanche, avec 5 à 10 pétales (Fig. 2). Le fruit est une grande capsule gonflée composée de 3 à 7 follicules réunis, chacun contenant de nombreuses graines. Il a un goût amer et piquant et une légère odeur de fraise (Varghese 1996 ; Dwivedi, 2003) (Figure N°3)



Figure N°3 : *Nigella sativa* L.(plante entière, fleurs et graines) (Varghese 1996 ; Dwivedi, 2003).

I.6.3. Conditions écologiques

Les semis doivent se faire en place car la nigelle n'aime pas être déplacée, il faut semer en lignes

Espacées de 30 cm, en plein soleil, dans un sol riche et bien drainé. La germination se fait en 10 à 15 jours. La nigelle fleurit en Juin-Juillet. Les graines peuvent être récoltées en Août. En laissant monter en graines quelques fleurs, de nouveaux plants apparaissent pendant des années. Il faut néanmoins veiller à supprimer les fleurs fanées au fur et à mesure pour prolonger l'épanouissement (Burtej ,1992 ;Cheers, 1997 ;Reylli, 2003).

I .6.4. Origine et distribution

En Europe du sud-est ou en Asie du sud-ouest. Ses graines ont été trouvées dans la tombe du pharaon Toutankhamon en Egypte. Pendant l'Antiquité, la Nigelle était déjà cultivée par les Juifs, les Arabes et les Indiens. Par la suite, il a été introduit dans plusieurs pays d'Europe, d'Asie et d'Afrique. L'espèce, autrefois cultivée en Europe centrale également, a quelque peu perdu de son importance économique.

En Algérie la nigelle est très peu cultivée en Algérie, elle est limitée à l'échelle traditionnelle dans les régions de : Ouargla, Biskra, Timimoune, Adrar, Médéa, et Skikda. (Mokkedam , 2004 ;bousbia 2004 et benkaci, 2007) .

I.6.5.Culture

Il est largement cultivé dans le sud de l'Europe, en Syrie, Égypte, en Arabie saoudite, Iran, Inde et Turquie (**Davis, 1965 ; Riaz et al., 1996**).

La plante pousse bien Dans un endroit frais et sec avec de faibles chutes de neige pour se réchauffer Zones humides. Au printemps, les branches des parties souterraines poussent et produisent des Cultures luxueuses. Le temps froid et humide favorise Floraison et ponte des graines. La plante pousse à 20-30 La longueur (**Tariq et al., 2012**).

N. Sativa L. est une culture de saison de rayons rudes, avec une température optimale de 15 ° C et une gamme de 5 à 25 ° C. Il pousse en plein soleil sur un large éventail de sols bien drainés de pH 6-7, mais préfère les sols de sonnerie. C'est tolérant de sécheresse et peut survivre dans les sols secs, mais nécessite un arrondissement régulier pendant des périodes sèches prolongées (**Lim, 2013**).

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 (**Anton R et al., 2005**)

I.6.6. Situation économique actuelle

- **Principaux pays producteurs**

Les principaux pays producteurs de nigelle sont : USA, l'inde ,le Pakistan ,l'Irak , l'Iran ,le yeoman, la Syrie , la Jordanie ,l'Ethiopie , le soudan , l'Egypte (**Jansen,1981 ;Ben Dekken,1994 ; Teuscher et al 2005**).

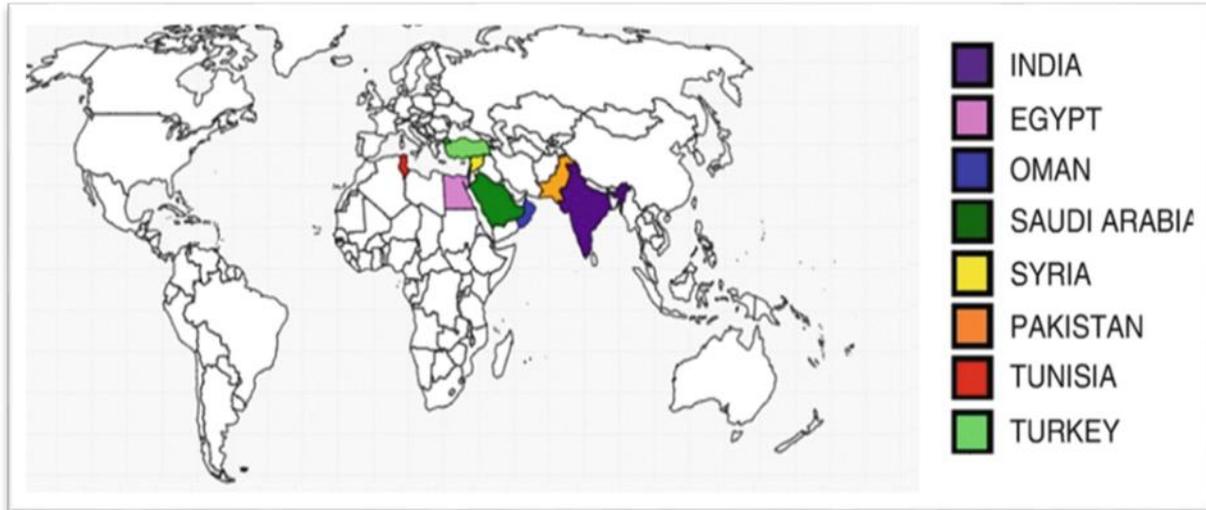


Figure N°4: Représentation de la répartition géographique des *Nigella sativa* L.
(Mokkedam , 2004 ;bousbia 2004 et benkaci, 2007) .

• Principaux pays ex porteurs

Les principaux pays ex porteurs de nigelle sont : l'Inde, l'Egypte, le moyen orient, et la sud de l'Europe (Teuscher et *al*,2005).

• Culture en Algérie

En Algérie la nigelle est très peu cultivée en Algérie, elle est limitée à l'échelle traditionnelle dans les régions de : Ouargla, Biskra, Timimoune, Adrar, Médéa, et Skikda. (Mokkedam A, 2004 ;bousbia N, 2004 et benkaci A, 2007).

L'Algérie important la nigelle de l'inde, chine et la Syrie, a titre de d'exemple les importations globales en graines et fruit oléagineux (sont la nigelle) de l'année 2007 sont l'ordre de 1737804 kg (annexe 01).

I.6.7. Utilisations

A-Utilisations en médecine traditionnelle

Au Maroc, la nigelle cultivée, souvent confondue avec la nigelle de Damas ou *Nigella damascena*, serait carminative, emménagogue, anthelminthique fortifiante, antirhumatismal, antimigraineuse. Elle est également utilisée contre le rhume, la grippe, les sinusites, la migraine, l'asthme, les hémorroïdes, dans les affections pulmonaires et les algies dentaires. A faible dose, elle est préconisée comme Galata gogue, antinauséuse, vermifuge, emménagogue, antipyrétique, antidote d'intoxications par poisons et antivenimeuse. Par voie locale, elle est

employée dans le traitement des verrues, des cors, du vitiligo, des dartres et de la paralysie faciale (**Sijelmassi A, 1991**).

En Algérie, la nigelle cultivée (confondue avec la nigelle de Damas) est employée en cas de fièvre, d'algies dentaires, de maux de tête, de rhumes de cerveau, comme diurétique et emménagogue. En infusion, elle est indiquée dans les nausées, les gastralgies, les vomissements et les coliques. Ecrasées dans l'huile, les graines sont employées comme liniment contre les rhumasses, Ecrasées et prises dans l'eau, elles seraient efficaces contre la constipation et les céphalées (**Maire et Savelli A, 1955 ; Passager P et BarbançonS, 1956**).

En Egypte, les graines sont utilisées pour leurs propriétés carminatives, emménagogues, diurétiques, anthelminthiques et immunostimulantes. L'huile de graines aurait une action protectrice contre les bronchospasmes. Elle serait antitussive et antiasthmatique (**Ahmed MS et al., 1979 ; Ducros AH, 1930**).

En Turquie, l'huile de graine est employée par voie orale pour ses vertus carminatives, bronchodilatatrices, expectorantes, anti hypertensives, diurétiques diaphorétiques, stomachiques et pour lutter contre l'indigestion ; en friction : elle est préconisée contre les spasmes musculaires, la sciatique et les rhumatismes (**Baser KHC et al., 1986**).

B-Usages comme épice

Les graines de nigelle entières ou moulues sont utilisées comme épice. Elles servent à saupoudrer le pain, le *Naan* (pain de régions d'Asie centrale et du sud) et les pâtisseries, les plats sucrés, les fromages, les sauces et les soupes pour les rendre plus appétissants. Elles sont également utilisées en accompagnement des graines de sésame dans la cuisine traditionnelle d'Asie, et sont ajoutées à différents plats selon les envies (**Vonarburg, 1998**).

Dans la région du Bengale, entre l'Inde et le Bangladesh, le cumin noir entre dans les recettes de légumes secs et dans la composition de certains mélanges d'épices comme *lepanchphoron*, composé de cinq épices : le cumin, le fenouil, la moutarde, le fenugrec et la nigelle (**Panchphoron, 2012**).

I .6.8. Toxicité

L'administration d'extrait de graine de *N.sativa* à raison de 50 mg/kg par voie intra péritonéale pendant cinq jours chez le rat entraîne une faible toxicité, notamment une faible incidence sur les activités d'enzymes et de métabolites reflétant les fonctions hépatique et rénale administration par voie orale d'huile de graines a des doses allant jusqu'à 10 ml/kg chez le rat n'entraîne pas de mortalité durant une période d'observation de 48 heures .L'administration à

fortes doses (2 g/kg de poids corporel) entraîne chez l'animal une hypoactivité et une difficulté respiratoire. La DL50 en thym quinone a été évaluée à 2,4 g/kg (**Ghedira,2006**).

I.6.9. Composition chimique des graines de la plante

A. Compositions générale

La première publication sur les recherches de la composition des graines de *Nigella Sativa* L a débuté en 1880 par Greenish, qui mentionne la présence de 37% d'huiles et 4,1% d'éléments minéraux (**Greenish.,1880**).

Les graines de *Nigella sativa* contiennent une huile volatile (0,5-1.6%), une huile fixe (35,5-41,6%), des protéines (22,7%) et acide aminé (**Al-Gaby., 1998**).

Les travaux concernant la composition chimique des graines de *Nigella sativa* ont révélé la richesse de ces graines en plusieurs constituant tant métabolites secondaires que primaires, dont la teneur varie selon les conditions géographiques et climatiques, ainsi que les méthodes d'extraction et de caractérisation pratiquées (**Atta ,2003 ; Sultan et al, 2009**).

Les graines de *Nigella sativa* contiennent 36%-38% d'huiles fixe, protéines, alcaloïdes, saponine et 0,4 à 2.5% d'huile essentielle (**Lautenbucher., 1997**).

Les graines contiennent de l'huile fixe (environ 30%) et des ou d'huile volatile (0, 5%). C'est aussi un riche source de protéine et d'acide aminés, les glucides, alcaloïdes, acides organique, tanins, résines, mucilages, métarbine, saponines, glycosidiques, fibres brute, vitamines, enzymes et minéraux(**Gali –Muhatasib et al ,2006 ;Omar et al,1999**).

L'analyse des graines de cumin noir a montré une composition de 20.85% de protéine 38.20% de matière grasse, 4,64% humidité, 4,37% de cendre,7,94% de fibres brute et 31,94% du total des glucides (**Al-Jassir,1992**)(**Tableau N°1**)

Tableau N°1 : Composition des graines de *Nigella sativa* (Al –jassir ,1992).

Constituant	Quantité (%)
Protéines	20.85
Matière grasse	30.20
Humidité	4.64
Cendre	4.37
Fibre brut	7.94
Glucides	31.94

B. Composés secondaires

B.1. Composés aromatiques

C'est en 1963 que le thym quinone, mono terpène oxygéné, a été isolée dans l'huile de nigelle par El-Dakhakhny. Et d'autres études ont mis en évidence les principaux constituants (Canonica et al, 1963).

Le thym quinone a été identifié comme le principal composant (jusqu'à 50 %) en plus du p-cymène (40 %), de l' α -pinène (jusqu'à 15 %), la dithymoquinone et la thymohydroquinone. D'autres dérivés du terpène n'ont été trouvés qu'à l'état de traces quantités ; Carvacrol, carvone, limonène, 4-terpinéol, et le citronellol (Pak, 2011) (Figure N°5).

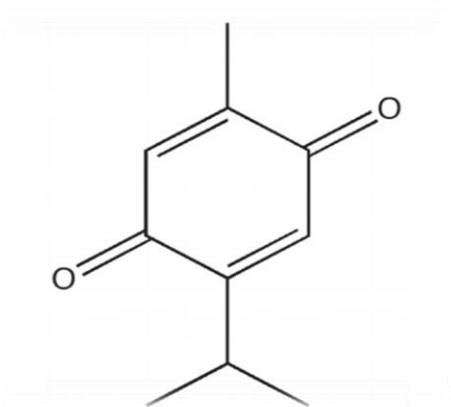


Figure N°5 : Structure chimique de thym quinone (Eric et al., 2011)

B.2. Saponosides

Dans une étude réalisée par Kumara et Huat (2001) il a été possible d'isoler et de caractériser à partir des graines de *Nigella sativa* un saponoside triterpénique douée de propriétés antitumorales appelée l' α -hederine.

Une étude ultérieure de Taskin et al (2005) a permis d'isoler à partir de l'extrait méthanolique trois autres saponosides apparentées à l' α -hederine, avec l'élucidation de leurs structures par des méthodes chimiques et spectrales.

B.3. Poly phénols et flavonoïdes :

Les composés phénoliques ou les poly phénols (PP) sont des produits du métabolisme secondaire des plantes (Fleuri et, 1982). Ils possèdent plusieurs groupements phénoliques, c'est

à dire au moins un noyau phénolique à six carbones, lié au moins à un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Bruneton, 1999**).

La classification des polyphénols est basée sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux grands groupes : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes les flavonoïdes (**Boros et al, 2010**).

Trois flavonoïdes triglycosylés ont été isolés à partir des graines de *Nigella sativa* et leurs structures ont été déterminées par **Merfort et al (1997)** :

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

B.4. Alcaloïdes :

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin. Il présente une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga, 2011**). Il donne une réaction de précipitation avec certains réactifs. C'est un composé synthétisé au niveau des racines et sera transporté, par la suite, au niveau de son site de stockage (**Rakotonanahary, 2012**).

Les plus importants alcaloïdes de *Nigella sativa* ont été isolés à partir des graines entre les années 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**).

I.6.10. Activité antioxydante

A. Définition d'un antioxydant

L'activité d'un antioxydant se traduit par sa capacité à inhiber la dégradation oxydative d'un substrat telle que la peroxydation des lipides et des protéines (**Pellegrini et al., 2003 ; Roginsky et Lissi., 2005**). Cet antioxydant a pour rôle d'empêcher les radicaux libres d'atteindre leurs cibles biologiques, d'où leur fonction de protecteur chimique (**Gardés –Albert et al., 2003**).

B. Activité antioxydante chez *nigella sativa*

Parmi les différents travaux qui ont été effectués pour évaluer les effets des graines de *Nigella sativa*, la majorité d'entre eux sont focalisés sur ses propriétés antioxydantes in vitro et in vivo.

B-1 Activité antioxydante in vitro

L'Activité antioxydante in vitro de l'huile essentielle de *Nigella sativa*, a montré que les composés : La thymoquinone, le carvacrol, le t-anthenol, et le 4- terpineol possèdent une propriété scavenger des radicaux libres remarquable. Cette propriété antioxydante a été confirmée par d'autres tests [Essai du DPPH), peroxydation lipidique non enzymatique et l'essai du désoxyribose] (**Burits et Bucar, 2000**).

L'huile fixe et ses fractions (lipides neutres, glycolipides et phospholipide) ont montré une activité antioxydante vis-à-vis des deux radicaux libres stables (DPPH et le radical glavinoxyl). Cette activité antioxydante est corrélée avec la teneur en acides gras polyinsaturés, en composés insaponifiables et en phospholipides, de même que la valeur peroxyde initiale de l'huile (Ramadan et Mörsel, 2003). L'huile fixe de *Nigella sativa* ainsi que la thymoquinone (un des composés majoritaires de l'huile essentielle) inhibent la peroxydation lipidique non enzymatique dans les liposomes (**Houghton et al., 1995**).

A côté de l'huile, qui a été largement étudiée pour ses propriétés antioxydantes, les extraits éthanoïque et aqueux des graines de *Nigella sativa* délipidées ont présenté une activité antioxydante importante, comparable à celle du TBHQ (tert-butylhydroquinone) (**Atta et Imaizumi, 1998**). **Thippeswamy et Akhilender (2005)** ont investigué les propriétés antioxydantes de trois variétés de cumin dont *Nigella sativa*. L'extrait aqueux et méthanolique de ses graines ont montré une activité antioxydante dans trois systèmes ; effet scavenger du radical DPPH, effet scavenger des hydroperoxydes lipidiques et inhibition de la peroxydation lipidique lipooxygénase dépendante, inhibition de la peroxydation lipidique non enzymatique au niveau des microsomes hépatiques

B-2 Activité antioxydante in vivo

L'administration de l'huile de *Nigella sativa* et de la thymoquinone chez des rats protégés contre l'hyperhomocystéinémie (induite par la méthionine en bloquant l'accumulation de l'homocystéine, l'une des causes de l'état du stress oxydant) implique la protection contre la peroxydation lipidique et les changements du statut oxydatif (**El Saleh et al., 2004**). Ainsi, une amélioration de l'activité du système antioxydant et une protection contre la peroxydation des

lipides et l'endommagement hépatique ont été observés chez des lapins diabétiques, après traitement par l'extrait aqueux des graines de *Nigella sativa* (Meral et al., 2001).

I.6.11. Travaux antérieurs

Les études entreprises jusqu'à présent sur *Nigella sativa* L., consistent en la recherche d'activités biologiques, notamment antimicrobienne, anti-inflammatoire et antioxydante de l'huile de nigelle, de son principe actif thymoquinone (TQ) et sur la détermination de la composition chimique des huiles essentielles extraites à partir des graines de *Nigella sativa*.

Eric et Kathy (2011) ont montré que les pépin noir de *Nigella sativa* ont des effets antidiabétiques, antinéoplasiques, antimicrobiens, modulateurs de l'inflammation, modulateurs de l'oxydoréduction, immuno modulateurs, analgésiques, hépato protecteurs, néphroprotecteurs et gastro protecteurs. Les essais cliniques sur des animaux ont dévoilé l'utilisation traditionnelle de cette herbe pour le traitement des troubles atopiques et elle pourrait être un complément utile à la chimiothérapie du cancer et à l'acétaminophène.

Aftab et al (2013), ont révélé à travers des études approfondies que la graine noire de *Nigella sativa* possède des actions pharmacologiques larges incluant des propriétés antidiabétiques, anticancéreuses, immun modulatrices, analgésiques, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, spasmolytiques, bronchodilatatrices, hépato-protectrices, rénales, gastro-protectrices et anti oxydantes. La plupart de ces propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de thymoquinone qui est un composant bioactif majeur de l'huile essentielle.

Asdadli et al (2014) ont réalisé une étude par chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrophotométrie de masse (CPG/SM) de plusieurs échantillons de *Nigella sativa* cultivé au Maroc. Ils ont identifié l'acide linoléique (58,5%), acide oléique (23,7%), acide palmitique (13,1%), les stérols : β -sitostérol et stigmastérol constituant environ 69 % des stérols totaux. Ils ont dévoilé aussi que l'huile de graine de nigelle a une activité antifongique pouvant être exploitée comme source potentielle naturelle d'antifongique en alimentation, cosmétologie et les produits pharmaceutiques.

Gareeballa Osman et al (2015) ont étudié les effets protecteurs de l'extrait de graines de *Nigella sativa* (NSPE) contre l'hépatotoxicité induite par l'acétaminophène (APAP) dans les cellules TIB-73 et chez 30 rats. Les résultats in vitro et in vivo de cette étude ont démontré que NSPE possède des effets protecteurs contre l'hépatotoxicité et les troubles métaboliques induits par l'APAP en améliorant les activités anti oxydantes en supprimant à la fois la peroxydation des lipides et les ROS génération.

Des travaux menés par **Mohammad et al (2016)**, ont révélé que la thymoquinone (TQ) (contenu dans l'huile *N. sativa*) possède une activité antimicrobienne significative contre les bactéries anaérobies (*Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis*, et *Bacteroides thetaiotaomicron*). Les CMI du TQ et du métronidazole (antibiotique et antiparasitaire) contre divers pathogènes humains anaérobies testés se situaient entre 10-160 mg/L et 0,19-6,25 mg/L, respectivement. De ce fait La TQ de *N. sativa* peut être utilisée dans le traitement de la diarrhée en médecine populaire. .

Des études rétrospectives réalisées par **Seher et al (2017)** sont publiées entre 2000 et 2015, ont prouvé que *N. sativa* exerçait des effets antibactériens puissants contre les souches bactériennes MDR, les espèces à Gram positif et à Gram négatif (*Salmonella*, *Helicobacter pylori* et *Escherichia coli*) causant une morbidité gastro-intestinale importante. Cependant les extraits de graines de cumin noir ont montré une action faible vis-à-vis des souches bactériennes : *Listeria monocytogenes* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Zineb et al (2017), Ont dévoilés que L'extrait de *Nigella Sativa* cultivée en Maroc possède un effet inhibiteur important sur *Streptococcus faecalis* (30mm), *Escherichia coli* (25mm), *Staphylococcus aureus* (20mm) cependant l'extrait inhibe faiblement *Pseudomonas aeruginosa* (10 mm). D'un autre côté ont montré l'action antioxydante importante de l'extrait de méthanol par la méthode DPPH.

Les études rétrospectives menées par **Alireza Tavakkoli et al (2017)** sur les utilisations cliniques de *N. sativa* et de TQ dans la prévention et le traitement de différentes maladies et des conditions de morbidité chez l'homme, ont prouvé que la graine noire et le TQ possèdent de multiples effets utiles pour le traitement des patients atteints de plusieurs maladies, telles que les troubles inflammatoires, auto-immuns et le syndrome métabolique. D'autres avantages, notamment des propriétés antimicrobiennes, anti-nociceptives et antiépileptiques, ont également été documentés. En plus les effets secondaires de cette plante médicinale presque négligeables, de ce fait elle peut être appliquée dans le cadre d'essais cliniques en raison de ses nombreux avantages.

Kehili et al (2017) n'ont publié que l'addition de la nigelle dans la nourriture induit une réduction de l'effet toxique (effet hépatotoxique, néphrotoxique, hépatotoxique) et l'effet pro-oxydant du cadmium. En plus la *N. sativa* évite la perturbation du bilan lipidique (taux élevé de LDL-Cholestérol, de triglycérides et un taux bas de HDL-cholestérol). En conséquence, la nigelle a une puissante activité antioxydante, qui peut atténuer l'intensité du stress oxydant induit par le cadmium, ainsi qu'un effet protecteur général réduisant les effets toxiques provoqués par ce métal.

Sayed Masoud Hosseini et al (2017) ont réalisé des expériences durant quatre semaines sur six groupes de rats dont un groupe témoin (solution saline, gavage), un groupe recevant de l'éthanol (3 g/kg/jour, gavage), un groupe recevant de la thymoquinone (2,5, 5, 10 mg/Kg/jour, par voie intrapéritonéale (IP)), et deux groupes recevant de l'éthanol et de la thymoquinone (10 mg/Kg/jour, IP). Les résultats trouvés ont révélé que la thymoquinone peut réduire l'augmentation de la peroxydation lipidique induite par la consommation à long terme de l'éthanol et la gravité de l'altération histopathologique dans les tissus du foie et des reins. En plus elle peut améliorer les niveaux de cytokines pro-inflammatoires dans les tissus hépatiques. En outre, la thymoquinone peut corriger le niveau des enzymes hépatiques, notamment l'alanine transaminase, l'aspartate transaminase et la phosphatase alcaline dans le sérum et la teneur en glutathion dans les tissus hépatiques et rénaux. En conséquence la thymoquinone peut avoir des effets préventifs contre la toxicité de l'éthanol dans le foie et les tissus rénaux par la réduction de la peroxydation des lipides et de l'inflammation, et aussi par l'interruption de l'apoptose.

Laura Bordoni et al (2019), ont testés la cytotoxicité, les propriétés antioxydantes et antiinflammatoires de l'huile extraite des graines de *N. sativa* récoltée dans la région des Marches en Italie et du principe actif thymoquinone isolé à partir de l'huile fraîchement extraite dans un modèle in vitro de pré-adipocytes humains inflammés dans le cadre du syndrome de Simpson-Golabi-Behmel. Les résultats révèlent la capacité de l'huile à contrecarrer la production de cytokines pro-inflammatoires ne dépend pas strictement de la teneur en thymoquinone, mais aussi d'autres composants antioxydants de l'huile.

Il n'y a pas des travaux antécédents menés sur l'influence du stress hydrique sur la plante *Nigella sativa* L

Partie II :
Partie Expérimentale

Chapitre I :

Matériel et Méthodes

I-Matériel et Méthodes

I-1- Choix, localisation et climatologie des deux stations d'étude

A- Choix et localisation

Le choix de ces deux stations est basé sur des critères écologiques (climat, sol, précipitations et altitude). Ces derniers ont une influence sur le développement de la plante, sur les métabolites secondaires et sur l'anatomie de la plante sur lesquelles nous avons focalisé notre travail.

La première zone d'étude est située dans **la région Timimoune** grand sud d'Adrar(Algérie). Située entre le Grand Erg Occidental au Nord et le plateau de Tademaït au Sud, située à 200 km au nord-est de la ville d'Adrar, chef-lieu de la wilaya à laquelle appartient administrativement la commune de Timimoune. La deuxième zone **Syrie** est un pays d'Asie de l'Ouest situé sur la côte orientale de la mer méditerranée. Elle possède des frontières terrestres avec la Turquie, l'Irak, la Jordanie, l'Israël, le Liban et une frontière maritime avec Chypre. Sa capitale est Damas.

La localisation géographique avec la texture du sol des deux stations d'étude est donnée dans **le tableau** .

TableauN°2: Localisation et texture du sol des deux stations d'étude.

Station	Texture du sol	Latitude	longitude	Altitude(m)
Timimoune	Limono-argileuses ou alluvionnaires	26° 30' et 28°30' Nord	0°30'Ouest	281 m
Syrie"	Limoneuse	34° 48' Nord	39° 3'Est	200 m

B-Climatologie des deux zones d'étude

La station de Timimoune se caractérise par une faible pluviosité et par un climat trop sec et la station de Syrie se caractérise par un Climat tempéré composé de quatre saisons avec des hivers doux et pluvieux et des étés chauds et ensoleillés.

a-Précipitation

La précipitation est la quantité d'eau météorique totale, liquide (Pluie, brouillard, rosée) ou solide (neige, grêle...) qui tombe sur une surface horizontale. L'étude des précipitations est très importante, elle permet de déterminer la part d'eau qui parvient pour l'alimentation des ressources souterraines.

Timimoune connaît une variation saisonnière minimale en termes de fréquence des mois de précipitations. Selon la **figure 06** et le **Tableau 03 (voir annexe)**, la station de Timimoune est caractérisée par le mois le plus arrosé qui est le mois d'avril avec des précipitations moyennes mensuelles de 7mm. Par contre les mois les plus secs correspondent au mois de janvier et septembre avec une précipitation moyenne mensuelle de l'ordre de 1 mm. La Syrie connaît une variation saisonnière minimale en termes de fréquence des mois de précipitations. Selon la **figure 07** et le **Tableau 04 (voir annexe)**, la station de la Syrie est caractérisée par le mois le plus arrosé qui est le mois de janvier et décembre avec des précipitations moyennes mensuelles de 7.5mm. Par contre, les mois les plus secs correspondent aux mois de mai et novembre avec une précipitation moyenne mensuelle de l'ordre de 0,57 mm

Pendant la période 2015-2020 la moyenne des précipitations est de 3 mm.

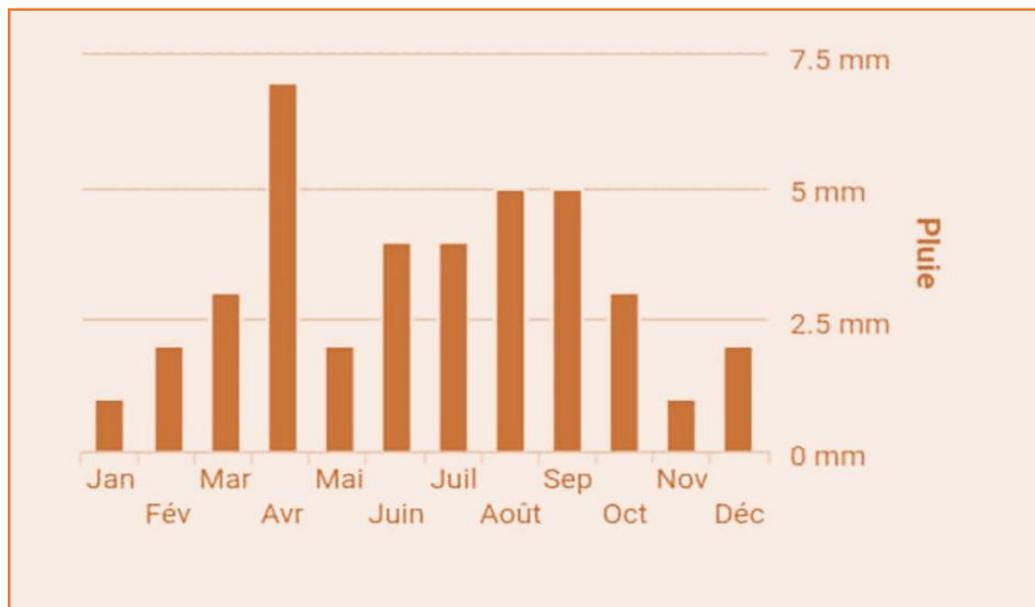


Figure N°6 : précipitation moyenne mensuelle en (mm) de la station de Timimoune (2015-2020) (données obtenues d'Office Nationale de la Météorologie de Dar El Beida Alger).

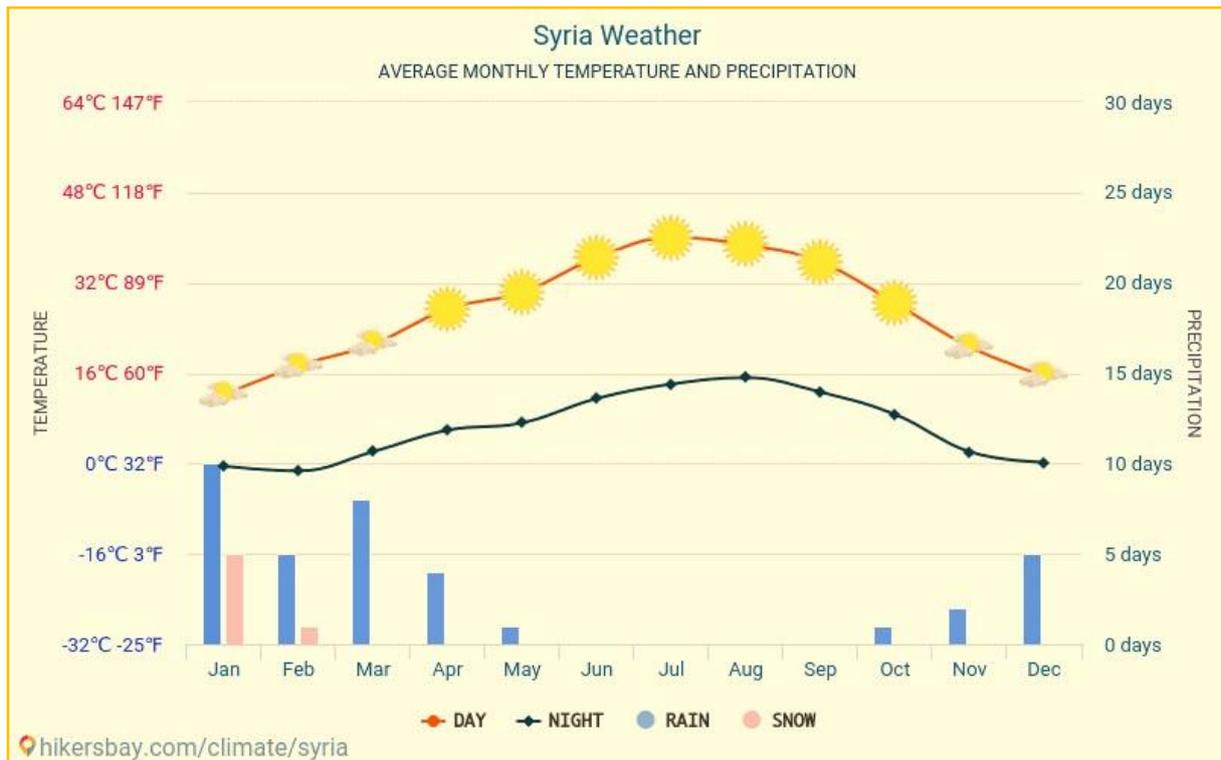


Figure N°7 : précipitation moyenne mensuelle en (mm) et Variation des températures de la Syrie (2015-2020).

b-Température

La température est un facteur important, elle régit l'évaporation et influence ainsi la variation des réserves d'eau souterraine.

Selon La **figure 08** et le **Tableau 5 (voir annexe)**, La station de Timimoune est caractérisée par le mois le plus froid est les mois de Janvier avec une température moyenne mensuelle de 19°C Le mois de Juillet est le mois le plus chaud avec une température moyenne mensuelle de 45 °C. **La figure 07** et le **Tableau 6 (voir annexe)** nous montre que la station de Syrie est caractérisée par les mois le plus froid est les mois de Janvier et février avec une température moyenne mensuelle de 15.5 °C. Les mois juillet et aout est le mois le plus chaud avec une température moyenne mensuelle de 39.5 °C.

Pendant la période 2015-2020 la moyenne des températures est de 32 °C.

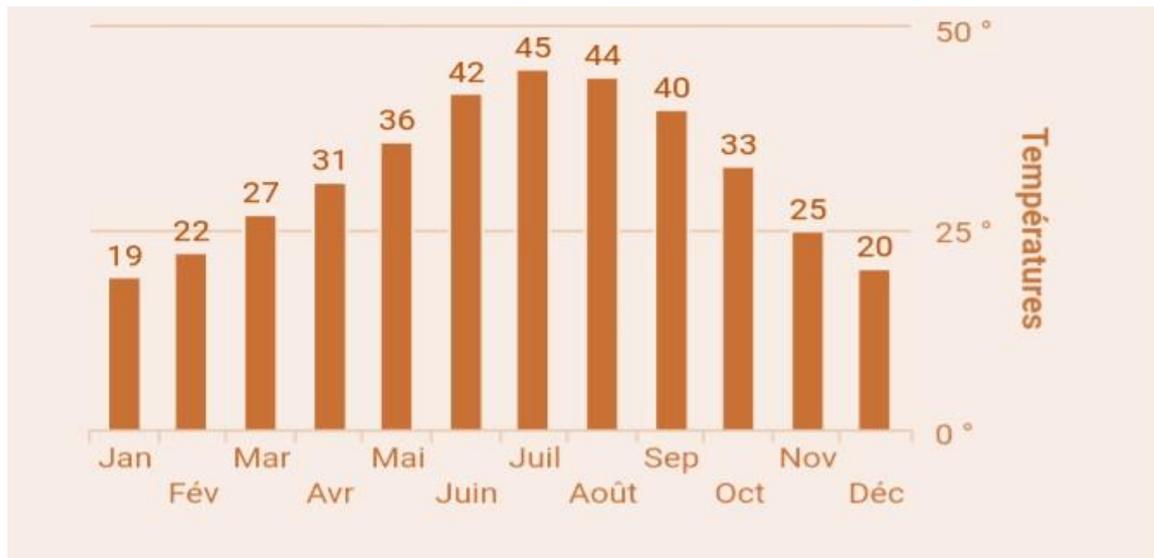


Figure N°8 : Variation des températures de la station de Timimoune (2015-2020) (données obtenues d'Office Nationale de la Météorologie de Dar El Beida, Alger .

C-Indice d'aridité de DERMARTONNE

En se basant sur le régime des précipitations et des températures, DEMARTONNE (1923) a défini un indice d'aridité (A) $A = P/T + 10$

P : Précipitation moyennes annuelles (mm).

T : Températures moyennes annuelles (°C).

Températures moyennes annuelles (°C). Pour le cas de la Syrie les températures et les précipitations moyennes annuelles sont respectivement : $T = 27,41$ °C et $P = 3$ mm. Il en résulte un indice d'aridité de DERMARTONNE de 10,10. On en déduit que le climat de la station de la Syrie est de type semi-aride.

Températures moyennes annuelles (°C). Pour le cas de la Timimoune les températures et les précipitations moyennes annuelles sont respectivement : $T = 32$ °C et $P = 34,41$ mm. Il en résulte un indice d'aridité de DERMARTONNE de 1,07. On en déduit que le climat de la station de la Timimoune est de type hyper-aride..

I.2. Matériel

I.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à des graines de l'espèce *Nigella sativa* L récoltée durant le mois de juin dans le pays de Timimoune La deuxième d'origine syrienne a été récoltée durant le mois de juin (**Figure 08**).



Figure N°09: *Nigella sativa* L (plante entière, graine, poudre, huile).

I.2.2. Matériel Microbien

Afin d'étudier le pouvoir antimicrobien des extraits des essentielle de *Nigella sativa* L. nous avons utilisé 04 souches bactériennes et deux souches fongiques. Toutes les souches proviennent de la collection Américaine de type ATCC et elles proviennent du laboratoire de Microbiologie du centre de recherche et développement CRD / SAIDAL. (Tableau 07)

Tableau N°7: Microorganismes-cible utilisés et les principales maladies qu'ils peuvent causées

Microorganismes	Collection ATCC*	Principales maladies pouvant être causées par ces germes
<i>Gram+</i>		
<i>Bacillus subtilis</i>	6633	- Intoxications alimentaires, vomissements et diarrhées, septicémie (rare)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	- Septicémie, toxi-infections alimentaires et entérocolites aiguës, inflammations locales et formation du pus et furoncles (infections cutaneo-muqueuses), entérites, vulvites (inflammation de l'épithélium vulvo-vaginal)
<i>Gram-</i>		
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	9027	Septicémie, infections urinaires, respiratoires, digestives, de la peau, de l'œil, de l'oreille et du système nerveux, abcès, endocardites
<i>Escherichia coli</i>	8739	Septicémie, infections urinaires, génitales, hépatobiliaires ou digestives, éningites, cholécystites et appendicites entérites, toxi-infections alimentaires, diarrhées et vomissements

			secondaires à grippe, différentes infections (bronchite, pleurales, otites et angines), abcès
Champignons	Saccaromyces cerevisiae	10231	aggrave l'inflammation intestinale la maladie de Crohn
	Candida albicans	1023	Troubles digestifs ,allergie, la fatigue,des troubles nerveux ,fatigue

ATCC*: American Type Collection Culture.

I.3. Méthodes

I.3.1 Préparation des extraits

A-Extrait aqueux

Nous avons mélangé 20g de poudre dans 100ml d'eau distillée bouillie puis laissée 20 min pour infusion avec agitation de temps en temps. L'extrait aqueux obtenu est ensuite centrifugé à 1000 tours/min pendant 10minutes pour débarrasser des débris puis filtré sur papier filtre de type wattman de type wattman N=°3. Le filtrat est recueilli dans des petits flacons en verre. (**Pharmacopée Européenne 2001**).

B. Extrait méthanolique

Suivant le protocole d'extraction décrit par (**OWEN et al, 2003**) et légèrement modifié. Le matériel végétal broyé (20 g) est soumis à une extraction par macération dans le mélange méthanol / eau (80/20 : v/v) pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures sous agitation à température ambiante. La solution est ensuite filtrée avec un papier filtre de type wattman n°3. Le marc résiduel a subi une deuxième et une troisième extraction avec le même solvant. Après filtration, les filtrats obtenus sont évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif pendant 60min a une température de 60°C.

L'extrait sec est pesé pour le calcul de rendement. Ce dernier est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R \% = (PES / PE) \times 100$$

R % : rendement en pourcentage

PES : poids de l'extrait sec (g)

PE : poids de l'échantillon poudre (g)

I.3.2. Screening phytochimique

Il englobe une série de méthodes colorimétriques qui permettent d'établir la présence ou l'absence de métabolites secondaires dans la plante à partir de sa poudre ou de l'infusé. Le screening aide à chercher : les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les tannins totaux, les irridoides, les tannins galliques les tannins cathéchiques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les sénosides, les quinones, les coumarines et les mucilages. **Le tableau 08** montre la méthode appliquée à la recherche de chacun de ces métabolites secondaires.

Tableau N°8 : Screening phytochimique (Harborne ,1998 ; Raamanet al. 2006).

Métabolites secondaires	Méthodes	Résultat
Anthocyanes	5ml d'infusé + quelques gouttes d'HCL.	Coloration rouge
Leuco-anthocyanes	2 g de poudre+ 20 ml de propanol / acide chlorhydrique (1/1). Porter à ébullition au bain marie	Coloration rouge
Tanins totaux	5ml d'infusé + quelques gouttes de FeCl ₃	Coloration bleue noire
Tanins galliques	1ml d'infusé + 2g d'acétate desodium+quelques gouttes de FeCl ₃ .	Coloration bleu foncé
Alcaloïdes	5g de poudre + 50 ml d'éther : chloroforme 3/1 Filtrer après 24h puis épuiser avec du HCL.	Précipité rouge
Flavonoïdes	À 5 ml d'infusé + 5 ml d'acide chlorhydrique + un coupon de Zinc +1 ml d'alcool iso-amylque.	Coloration rouge orangé
Sénosides	2,5 g de poudre + 50 ml d'eau distillée + 2 ml d'acide chlorhydrique concentré. Chauffer pendant 15 min+40 ml d'éther. La couche étherée est séparée, séchée avec le sulfate de sodium anhydre, évaporée+ 5 ml d'ammoniaque diluée (1/2) au résidu refroidi	Coloration violette rouge
Quinones	Humecter 2 g de poudre par 2 ml d'acide chlorhydrique+ 20 ml de chloroforme. Après 3 heures, le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque (1/2).	Coloration rouge
Coumarines	Faire bouillir à reflux 2 g de poudre dans 20 ml d'éthanol pendant 15 minutes. 5 ml du filtrat + 10 gouttes d'hydroxyde de potassium à 10 % + quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10 %.	Formation d'un trouble
Mucilages	5 ml d'éthanol absolu sont ajoutés à 1 ml d'infusé. Le mélange est incubé pendant 15 minutes.	Précipité floconneux

Saponines	Test de la mousse : l'extrait est repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai. Le tube est agité vigoureusement,	la formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable et persistante pendant 15min, indique la présence des saponines
Glycosides	On mélange 2g de poudre de la plante avec quelques gouttes d'acide sulfurique (H ₂ SO ₄) concentré (96%)	Apparition d'une couleur rouge-bleu.
Saponosides	A 2 ml d'infusé, on ajoute quelques gouttes d'acétate de plomb.	Formation d'un précipité blanc.
Stéroïls ou tri terpènes	L'extrait de l'éther de pétrole est dilué dans 2ml d'anhydride acétique. L'ajout de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré permet l'apparition d'une coloration violette qui indique	une coloration verte qui indique la présence de stéroïls.

I.3.3. Caractérisation quantitative des extraits

I.3.3.1. Dosage des Poly-phénols et flavonoïdes

A-Poly-phénols

But : La détermination de la teneur en poly-phénols totaux dans l'extrait des graines *Nigella sativa L.* par la méthode Spectrophotométrie UV-Vis selon la méthode au réactif de FolinCiocalteu (Singleton et al, 1999).

-Principe

Ce dosage est décrit par (Skerget et al., 2005). Basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéro-polyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro- polyacides, d'où la formation d'un complexe bleu.

-Mode opératoire

A 0.2 mL d'EM (avec concentrations convenables : 200µg/mL, 20µg/mL et 2µg/mL) est ajouté 0.8 mL de la solution de Na₂CO₃ (75 mg/mL dans l'eau distillée), après agitation, 1mL de la solution de FolinCiocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) est ajouté à

l'ensemble, après 2 h d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 760 nm contre un blanc sans extrait.

Le taux de poly-phénols totaux dans l'extrait, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=a \cdot x+b$)(**figure 09**), établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0-0,5 g/l) comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en gramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de poudre.

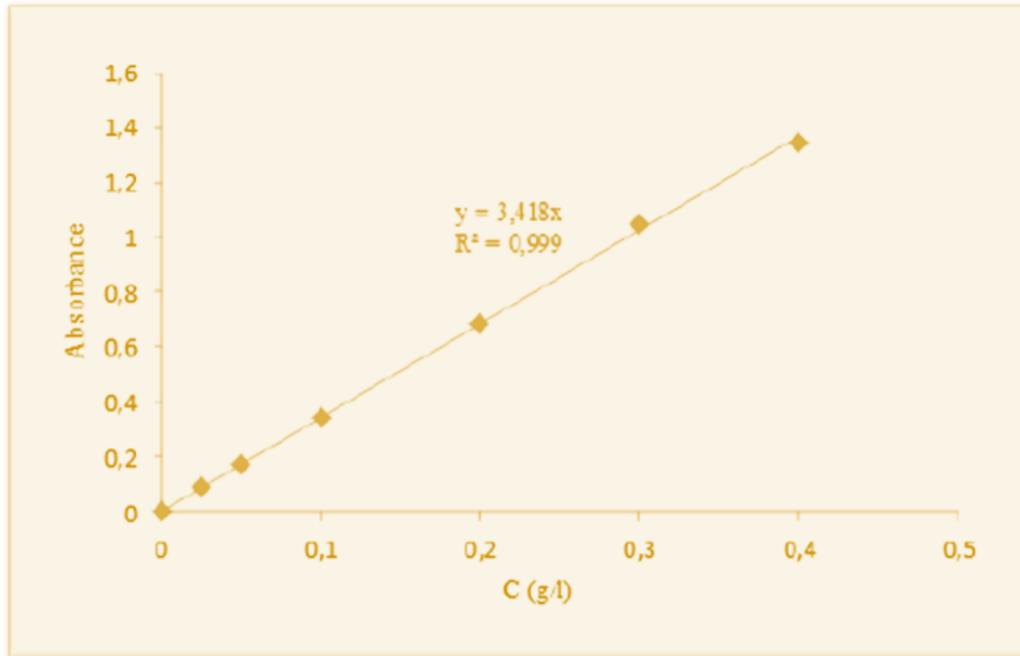


Figure N°9: courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

B. Flavonoïdes

But : Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait de graine de *Nigella sativa* L par La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ décrite par (Yi *et al.*,2008).

-Mode opératoire

1 ml de chaque concentration obtenue par dilutions de l'Eaq de (10mg/mL, 8mg/mL, 6mg/mL, 4mg/mL, 2mg/mL) est ajouté à 1mL de la solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol), le mélange est vigoureusement agité. Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage ($y=a \cdot x+b$) (**figure 10**) établie par la quercétine (0-350 μ g/ml), réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification

des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en gramme d'équivalent de quercétine par gramme de poudre.

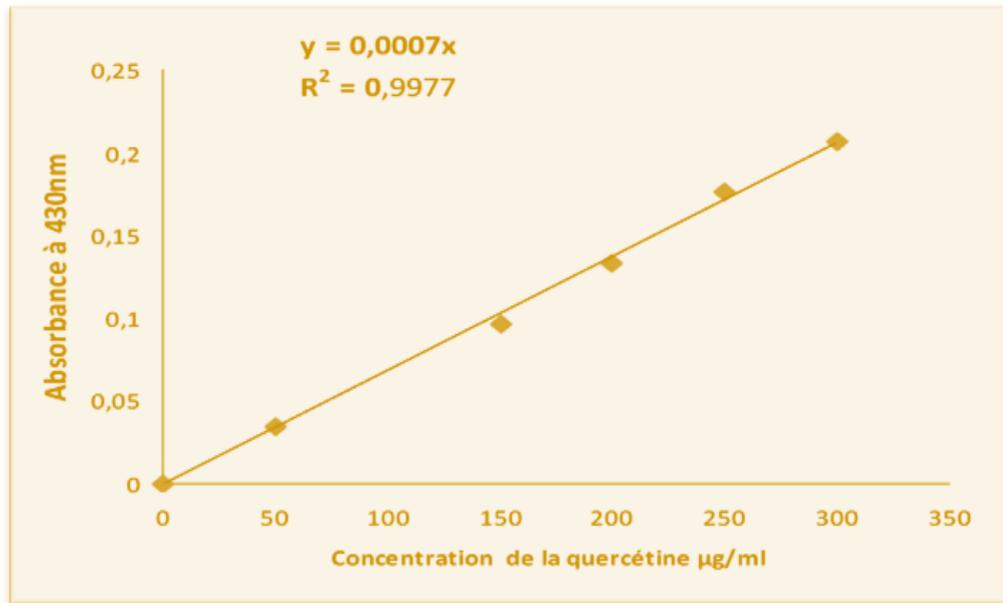


Figure N°10: courbe d'étalonnage de la quercétine

I.3.4 Activité anti-oxydante (in vitro)

Principe : selon (Brand-Williams et al, 1995); La capacité anti-oxydante peut être aussi mesurée en utilisant des radicaux libres plus stables. Le radical 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre très stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette. Par cette méthode, on considère que l'activité anti-oxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piègeur des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration (jaune) dans la solution initiale (figure 11).

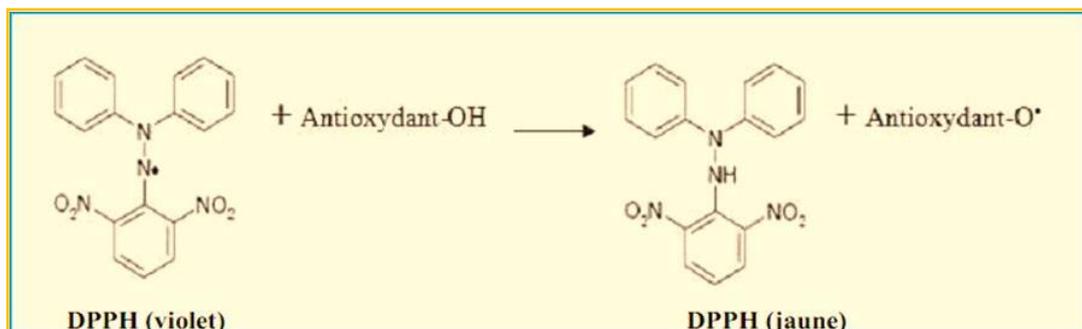


Figure N°11: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

-Mode opératoire

50 microlitres d'Extrait aqueux de *Nigella sativa L.* à différentes concentrations (10mg/ml, 8mg/ml, 6 mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml) et d'Extrait méthanolique de concentration (200µg/ml, 20 µg/ml, 2µg/ml, 0.2µ/ml, 0.02 µg/ml) est ajouté à 5 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,004%).

En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µL de méthanol avec 5 ml de la solution méthanolique de DPPH.

Egalement le même test a été réalisé dans les mêmes conditions opératoires avec un antioxydant de référence : acide ascorbique.

-Lecture des résultats

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 516 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à une température ambiante. (**Gürsoy et al., 2012**).

L'activité anti-oxydante est estimée selon l'équation suivante :

$$I\% = [1 - (\text{Abs échantillon} - \text{Abs contrôle})] \times 100.$$

I% : pourcentage d'inhibition ou d'activité anti radicalaire.

Abs contrôle : Absorbance du contrôle négatif.

Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon.

-IC50

Ce paramètre est défini selon (**Pokorny et al., 2001**) comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité anti-oxydante

Le paramètre IC50 a été calculé à partir de la courbe de régression linéaire tracée du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait aqueux.

I.3.5 Activité anti bactérienne**A. Préparation des échantillons**

Deux échantillons ont été étudiés pour illustrer la variabilité de la réponse de l'huile d'origine géographique différente vis-à-vis des souches de microorganismes hautement pathogènes analysées : l'huile H1 d'origine Syrienne, l'huile H2 d'origine grand sud Algérien (région Timimoune) .

Les tests d'activité antimicrobienne sont réalisés par la technique par contact direct (méthode de diffusion sur gélose en plaque). Nous avons utilisé la méthode harmonisée standard (pharmacopée européenne 2014).

B- Inoculum bactérien et levurien

1-Principe :

Consiste en la mise en contact du microorganisme test dont la densité de l'inoculum est ajustée au spectrophotomètre à une valeur normalisée de 10^7 à 10^8 ufc/ml avec le disque d'antibiotique imprégné de l'huile de nigelle à tester. Dans le cas d'une inhibition positive, il se forme à l'équilibre de diffusion après incubation de 18h à 24h pour les bactéries et 48h à 72h pour les champignons, un halo d'inhibition tout autour du disque. La mesure du diamètre de la zone d'inhibition permet de déterminer l'intensité de cette activité antimicrobienne.

2-La souchothèque du laboratoire :

Nous avons d'abord commencé à établir notre souchothèque à partir de souches de référence de la collection ATCC commercialisées sous-forme de pastilles lyophilisées. Quatre pastilles bactériennes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et deux pastilles fongiques: *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans*. La pastille lyophilisée contenant le germe test est reconstituée dans 5 ml de tryptycase soja bouillon (TSB) incubé à 35°C pour les bactéries durant 24h et 25°C pour les champignons durant 48h (phase de reconstitution et d'enrichissement). A partir de cet enrichissement, on procède à un repiquage sur milieu solide (TSA pour les bactéries et SB pour les champignons) à raison d'une boîte de pétri par microorganisme. Puis incubation sous des conditions optimales de croissance comme décrites ci-dessus. A partir de ces cultures jeunes, on prélève une à deux colonies que l'on dépose au fond du tube incliné en faisant des stries tout le long de la gélose inclinée. Les tubes inclinés ainsi obtenus (à raison de cinq tubes inclinés par microorganisme), sont mis à incuber à des conditions optimales de croissance comme décrits précédemment. Notre souchothèque est conservée au laboratoire à +4°C et sera renouvelée et entretenue après chaque mois de conservation.

3-Préparation de l'inoculum bactérien et levurien :

A partir d'un tube de conservation décrit ci-dessus, une ou deux colonies sont mises à ensemençer sur milieu solide (TSA pour les bactéries et SB pour les levures) à raison d'une boîte de pétri par microorganisme et mises à incuber à des conditions de croissances

optimales (comme décrits ci-dessus). A partir de ces cultures jeunes de 18h pour les bactéries et 48h pour les levures, nous préparons les suspensions de germes en dissolvant une à deux colonies dans 5 ml d'eau physiologique que l'on ajuste au spectrophotomètre UV/VIS à 620 de façon à obtenir un inoculum de 10⁷ à 10⁸ correspondant à 0.5 Mac-Farland. Cet inoculum va servir à l'étude de l'activité antimicrobienne.

C- Méthode d'Antibiose

1- Confrontation HE-Bactéries et HE-Levures

a- Ensemencement par inondation

1 ml de l'inoculum bactérien ou de la levure est déposé, puis étalé sur le milieu Mueller-Hinton ou Sabouraud respectivement. On aspire l'excès du liquide puis on laisse sécher la boîte pendant 15 mn à 35°C.

b- Dépôt de disques imprégnés d'HE et incubation

On dépose 3 à 5 disques stériles de papier Whatman n°3, de 6 mm de diamètre, imprégnés avec 2,5 µl des différents extraits d'HE provenant des plantes des deux stations à la surface du milieu Mueller-Hinton ou gélose Sabouraud. Les disques sont disposés de telle manière que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.

Après diffusion de l'HE dans le milieu pendant 15 mn à une température de 30°C, les boîtes sont incubées 37°C pour les bactéries et à 30°C pour la levure. La lecture s'effectue après 24 H d'incubation pour les bactéries et 48H pour la levure par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition du germe-cible.

2- Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (**Rodriguez vaquero et al., 2007**). La sensibilité aux différents extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition (**Tableau 9**). Notre huile de nigelle est comparée par-rapport à un antibiotique standard la Gentamycine (10µg) comme témoin positif de Ø = 18.88 mm.

Tableau N°9: estimation de la sensibilité des souches

Diamètre (mm)	Activité antimicrobienne	Souche
D < 10	Nulle	Résistante
D ≤ 16	Faible	Sensible
D [16-28]	Moyenne	Très sensible
D ≥ 28	Forte	Extrêmement sensible

D- Détermination de la concentration minimale d'inhibition (CMI)

1- Préparation de l'inoculum

L'inoculum bactérien et levurien est préparé de la même manière que précédemment

2- Préparation des dilutions d'HE dans le milieu de culture

2,5 ml de tween 80 (c'est une polysorbate, hydrophile qui oriente les émulsions dans le sens "huile dans l'eau", autrement dit qui disperse la phase huileuse dans la phase aqueuse de manière obtenir une émulsion du type HE) sont ajoutés à 90 ml d'eau distillée. L'ensemble est stérilisé à 120 °C pendant 15 mn (solution A). On prépare ensuite une solution mère contenant 9 ml de la solution (A) et 1 ml d'HE que l'on agite fortement en utilisant le vortex pour une bonne dispersion de l'HE. A partir de cette dernière, on prépare des dilutions successives avec de l'eau distillée. On obtient ainsi différentes concentrations en HE (10^{-1} à 10^{-5}).

Dans des tubes à essai, on ajoute 13,5 ml du milieu Mueller-Hinton pour les bactéries ou Sabouraud pour les champignons (Gélose en surfusion) à 1,5 ml de la solution mère et à 1,5 ml des diverses dilutions. On obtient ainsi des concentrations en HE dans le milieu de culture de 10^{-1} à 10^{-5} .

Le tube témoin contenant 13.5 ml du milieu Mueller-Hinton et 1,5 ml de la solution A.

Les tubes à essai et le tube témoin sont bien agités au vortex puis leur contenu est versé dans des boîtes de Pétri.

3- Etape d'ensemencement

a- Ensemencement des Bactéries et des levures

A la surface du milieu contenant les différentes dilutions d'HE, on ensemence les bactéries ou la levure par écouvillonnage. Les souches sont ensemencées séparément et en parallèle à raison de 5 à 6 /boîte de Pétri. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pour les bactéries pendant 24h et à 30°C pour la levure pendant 48H.

La lecture de la CMI est la plus faible concentration d'huile essentielle inhibant toute croissance bactérienne ou levurienne.

Chapitre II :

Résultat et discussions

II.1. Rendement des Huiles essentielles des deux régions :

Le rendement des huiles essentielles *N. sativa* (19%) de la région de Timimoune est supérieur à celui *N. sativa L.* la région Syrie (12%). (**Figure 13**).

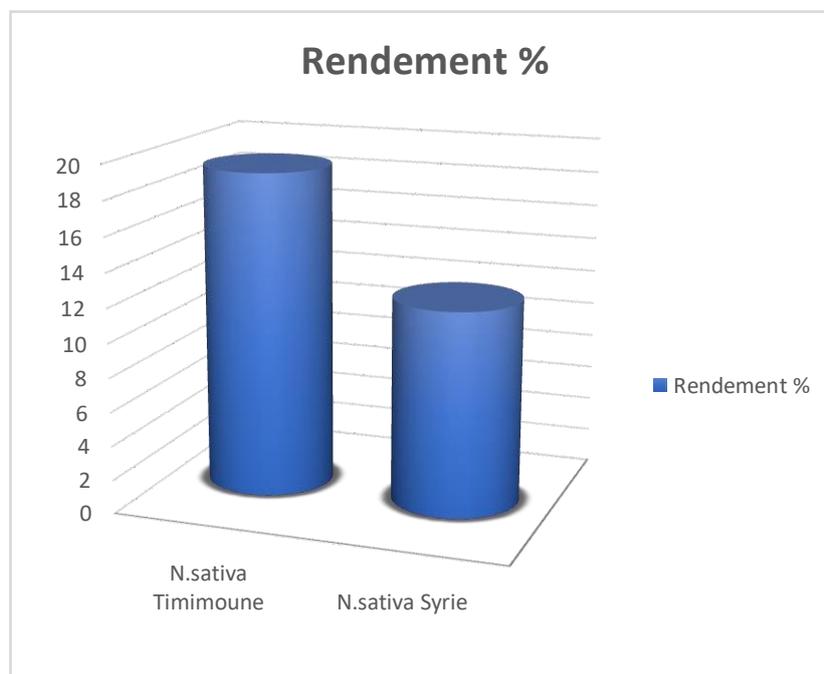


Figure N°13 : Rendements de la masse des extraits secs des échantillons *Nigella sativa L.* récoltée dans deux régions différentes (Timimoune et Syrie).

Nos rendements trouvés sont supérieurs à ceux des huiles essentielles extraites à partir des graines de la région Saoudia (0,4% -2,5% d'huile essentielle) réalisés par **Hosseinzadeh et Parvardeh (2004)**.

Les rendements des huiles essentielles sont probablement dû aux facteurs suivants

- Aux conditions pédoclimatiques des deux régions.
- Au degré d'aridité : hyper-aride dans la région de Timimoune et semi-aride dans la région de Syrie.
- Aux facteurs génétiques, le stade végétatif et la méthode d'extraction. (**Fellah et Romdhane ,2006**)
- Et aux conditions environnementales (la lumière, la disponibilité des nutriments, et la longueur du jour). (**Fellah et Romdhane, 2006**)

II.2. Screening Phytochimique :

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des graines de *Nigella sativa L.* des deux régions. La détection de ses

composés est basée sur des essais des solubilités des constituants, des réactions des précipitations et de turbidité et un changement de couleur spécifique.

Un test phytochimique permet l'identification des différentes familles de métabolites secondaires existants dans la partie étudiée de la plante (les alcaloïdes, les flavonoïdes, ... etc.) Par des réactions de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille ainsi que de l'examen en lumière Ultraviolette.

Les résultats sont présentés dans le **Tableau 10**.

La mise en évidence la présence des stérols est confirmée par l'apparition d'un anneau avec anhydride acétique, chloroforme et H₂SO₄. Ces stérols sont fortement présents dans les graines de la région de la Syrie et ils sont relativement moyens dans les graines de la région de Timimoune.

Le test des tannins révéla la richesse des graines des deux régions en tannins .

Les flavonoïdes sont présents dans les graines de *Nigella sativa* L. récoltée dans deux régions mais avec des quantités variées. Cette constatation est témoinnée par l'apparition d'une coloration jaune plus ou moins intense dans le milieu réactionnelle.

Tableau N°10 : Résultats du screening phytochimique de *Nigella sativa* L. récoltée dans les deux régions (Timimoune et Syrie).

Métabolites secondaires	Région de Syrie	Région de Timimoune
Flavonoïdes	++	+++
Tannins totaux	+++	+++
Les Stérols	+++	++
Saponines :	-	++
Anthocyanes	-	-
Coumarines	-	++
Glucosides	-	-
Terpènes	-	-
Alcaloïdes	-	+++
Quinones	-	++

Les alcaloïdes sont confirmés par la présence d'un précipité blanc jaune avec le réactive de Wagner. Ces alcaloïdes se présentent avec une quantité importante dans les graines de la région Timimoune ; mais ils sont absents dans les graines de la deuxième région.

Les saponines, les quinones et les coumarines sont présents avec une quantité moyenne seulement dans les graines la région de Timimoune. Les terpènes, les anthocyanes et les glycosides sont absents dans les graines des deux régions.

les résultats montrent que cette plante est d'une grande importance, elle est riche en composés phénoliques tel que les tanins et les flavonoïdes qui sont des substances reconnues pour leur propriété anti oxydantes (**Hertoget *et al.*, 1993**).

Cette étude a également montré l'existence d'une réelle biodiversité moléculaire, qui confère à la plante des vertus médicinales importantes à valoriser. Parmi les métabolites secondaires mis en évidence, les flavonoïdes ont un important champ d'action possédant de nombreuses vertus médicinales : antioxydantes (**Granato *et al.*, 2018**), anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, antiallergiques, anti ulcérogènes, et effets protecteurs vasculaires (**Umeshet *et al.*, 2018**), antimicrobiens (**Usman *et al.*, 2018**), antitumoraux, antisécréteurs et antidiarrhéiques (**de Souza *et al.*, 2018**), hypotenseurs et aphrodisiaques (**Rai *et al.*, 2018**). Les tanins avec leurs propriétés de former des complexes avec les protéines, présentant des propriétés antidiarrhéiques, antibactériennes et antifongiques (**Dainget *et al.*, 2017 ; Usman *et al.*, 2018**), et renforcent les vaisseaux sanguins contribuant à l'accumulation de la vitamine C dans l'organisme (**El-Guendouz *et al.*, 2017**). Les anthocyanes sont des puissants antioxydants. Les coumarines ont des propriétés antipyrétiques, analgésiques, sédatives, antiœdémateuses et anti-convulsivantes, ainsi qu'une capacité à favoriser l'expulsion des gaz intestinaux entraînant une diminution des ballonnements et des flatulences (**Mpondoet *et al.*, 2015**). Plusieurs effets biologiques ont été attribués aux saponines. Elles ont des propriétés antioxydantes, antifongiques, antivirales, immunostimulantes, hypocholestérolémiantes et anticancérigènes. Les saponines ont également une incidence importante sur la croissance, la consommation alimentaire et la reproduction chez les animaux (**Francis *et al.*, 2002**). De plus, ces métabolites montrent une activité cicatrisante des plaies par activation du processus de cicatrisation (**Razikaet *et al.*, 2017**). Les coumarines quant à elles, possèdent des propriétés anticoagulantes et antimicrobiennes (**Salvador *et al.*, 2018**).

II-3. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

II-3-1- Dosage des polyphénols

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu (**Boudiaf, 2006**). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/gES), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (voir Matériel et Méthodes).

Les résultats des taux des polyphénols des deux régions repérées sont présentés par le **la figure 14**. La concentration des polyphénols de l'extrait méthanolique de *Nigella sativa L* récoltée dans la région de Timimoune renferme $40 \pm 0,20$ mg EAG/ g d'extrait. Cette valeur est nettement supérieure à celle de l'extrait méthanoïque de *Nigella sativa L* récoltée dans la région de Syrie et qui est de $02 \pm 0,30$ mg EAG/ g d'extrait.

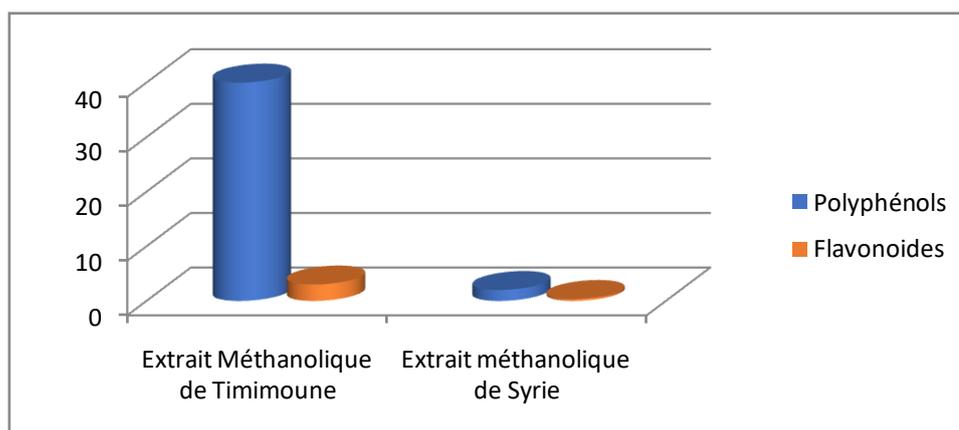
II-5-2- Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par (**Djeridane et al., 2006**) et (**Boudiaf, 2006**). La quercétine, considérée comme contrôle positif, a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, qui nous a permis de déduire la teneur en flavonoïdes des différentes extrait, exprimée en mg équivalent de quercétine (EQ) par gramme de matière d'extrait sec.

Les résultats des taux des flavonoïdes dans les extraits des deux stations étudiées, sont mentionnés dans **la figure 13**. Nos résultats révèlent une quantité faible en flavonoïdes dans les deux régions de Timimoune ($03 \pm 0,56$ mg EQ / g d'extrait) et de Syrie ($0.35 \pm 0,21$ mg EQ/ g.)

Les valeurs des teneurs en polyphénols et flavonoïdes de la plante *Nigella sativa L*, récoltée dans la station de Timimoune sont en accord avec ceux de la littérature. Notamment les travaux de **Meziti et al (2012)**, ont rapportaient une forte teneur en polyphénols (33.64 ± 0.34 mg EAG/g d'extrait Méthanolique) et une teneur faible en flavonoïdes (3.80 ± 0.07 mg EQ / g d'extrait Méthanolique).

Mechraouiet al. (2018) ont signalé des teneurs faibles en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits méthanoïques des graines récoltées dans l'Arabie saoudite avec des teneurs respectives de 1.3714 ± 0.0315 mg EAG/g d'extrait Méthanoïque et 0.4418 ± 0.0157 mg EQ / g d'extrait Méthanolique. Ces résultats sont similaires aux teneurs de nos extraits méthanoïques des graines récoltées dans la région de la Syrie.



(a) mg EAG/g d'extrait Méthanolique

(b) mg EQ/g d'extrait Méthanolique

Figure 14 : Les résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes condensés dans les extraits méthanoïques de *Nigella sativa L* récoltée dans deux régions différentes (Timimoune et Syrie).

D'autres études réalisées sur les différents extraits de cette plante, ont toujours montré que les extraits par le chloroforme et le méthanol présentent les niveaux les plus élevés en composés phénoliques et flavonoïdes par rapport aux extraits aqueux et héliques (**Boudiaf et al., 2010 ; Meziti et al., 2012**). La faible teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans la fraction neutre est expliquée par l'absence des composés polaires dans cette fraction (fraction apolaire) alors que les composés phénoliques sont, généralement, des composés polaires à cause de leur richesse en fonctions hydroxyles (**Sultan et al., 2009**).

En outre, les différences dans les concentrations totales de phénols entre les échantillons peuvent être dues à de nombreux facteurs, tels que les conditions environnementales, le fond génétique, ou les techniques agricoles appliquées.

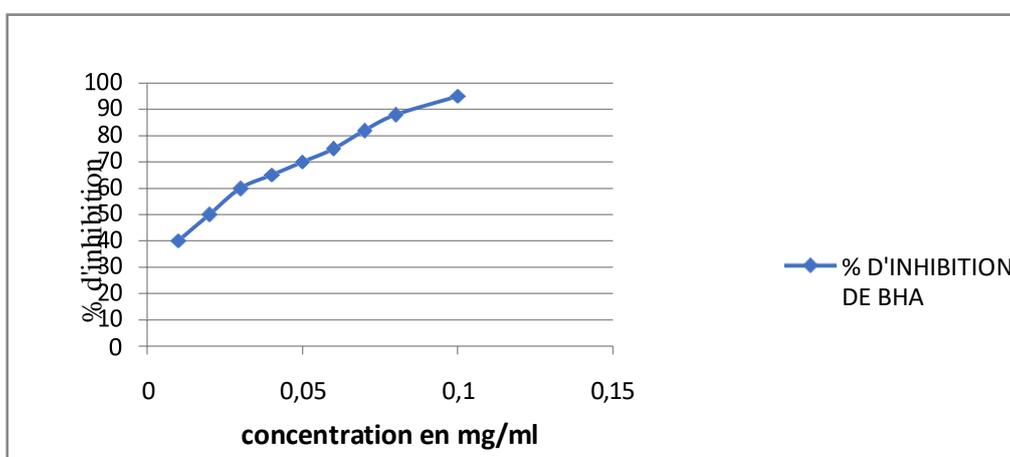
II-3-Activité antioxydante de l'extrait Méthanolique de *Nigella sativa L*.

-Détermination du pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) sont enregistrés dans **les figures 15,16**

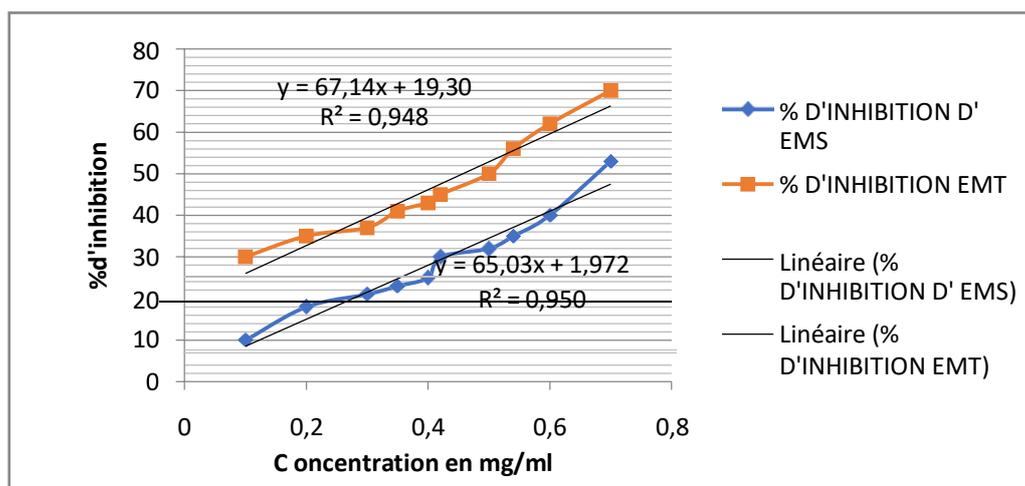
Nous constatons que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration pour le BHA (Hydroxyanisole butylé) et pour les extraits Méthanoliques des graines de *Nigella sativa L* récoltée dans la région de la Syrie et dans la région de Timimoun.

On note que l'efficacité antioxydante augmente avec la concentration des extraits Méthanoliques des graines de *Nigella sativa L* récoltée dans les deux régions. Cependant, le pourcentage d'inhibition du radical libre de l'extrait Méthanolique des graines de *Nigella sativa L* récoltée dans la région de la Syrie est inférieur à celui de l'extrait Méthanolique des graines de *Nigella sativa L* récoltée dans la région de Timimoune et de BHA pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 0.35 mg/ml, les extraits Méthanoliques des graines de *Nigella sativa L* récoltée dans la région de la Syrie et dans la région de Timimoune ont révélé des pourcentages d'inhibition de DPPH respectifs de 23% et de 41% tandis que le BHA a divulgué 100 % d'inhibition de DPPH (Figure 15)



BHA : Hydroxyanisole butylé

Figure 15: Pourcentage d'inhibition de BHA (Hydroxyanisole butylé)



EMS : Extrait méthanolique de *Nigella sativa L* récoltée dans la région de la Syrie

EMT : Extrait méthanolique de *Nigella sativa L* récoltée dans la région de Timimoune

Figure 16: Pourcentage d'inhibition d'extrait Méthanoliques de *Nigella sativa L* récoltée dans deux régions différentes et de BHA (Hydroxyanisole butylé)

-Détermination d'IC50

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé. Elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande

Les valeurs d'IC50 de BHA (Hydroxyanisole butylé) et d'extrait Méthanolique de *Nigella sativa L* récoltée dans deux régions différentes sont indiquées dans **la figure 17**.

L'extrait Méthanolique des graines de *Nigella sativa L* récoltée dans la région de Timimoune et dans la région de Syrie pouvaient ramener le radical libre stable 2.2 diphenyl- 1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec des IC50 respectives 0.45mg/ml (450 ug/ml) et 0.65mg/ml (650 ug /ml). Ces dernières sont inférieures à celle de BHA (0.02mg/ml (20 ug /ml). Cependant, on remarque que l'IC50 d'extrait e Timimoune est inférieure à celle d'extrait de la Syrie. Donc l'extrait Méthanolique de Timimoune exhibe une activité antioxydante importante par rapport à celle de la région de Syrie.

Les résultats sur l'extrait Méthanolique des graines de *Nigella sativa L* récoltée la région de Timimoune concordent également avec ceux trouvés **Bourgue et al (2008)**. Ils ont dévoilé que l'extrait méthanoïque de *Nigella Sativa L*. est doté d'un pouvoir antioxydant modéré, leur IC50 est de 450 mg/ml ce qui est largement supérieure à celle de l'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 16 mg/ml.

Par ailleurs, Il a été démontré que les molécules antioxydants telles que l'acide ascorbique, les tocophérols, les flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (**Bourgue et al ,2008**). Les polyphénols contenus dans les extraits de *Nigella Sativa L*. sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits d'autant plus que l'activité antioxydante de l'extrait éthanoïque trouvé est toujours supérieure que celle de l'extrait aqueux (**Bourgue et al ,2008**). Ceci est en accord avec les travaux menés sur les extraits de *Nigella Sativa L*. qui ont mis en évidence une forte activité antioxydant de l'extrait alcoolique, de l'huile, de l'huile essentielle et de la Thym quinone TQ extraits des graines de la Nigelle. Les même études montrent que la *Nigella Sativa L.*, est une espèce riche en composés phénoliques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques notamment l'activité antioxydant, anticancéreux et antimicrobienne

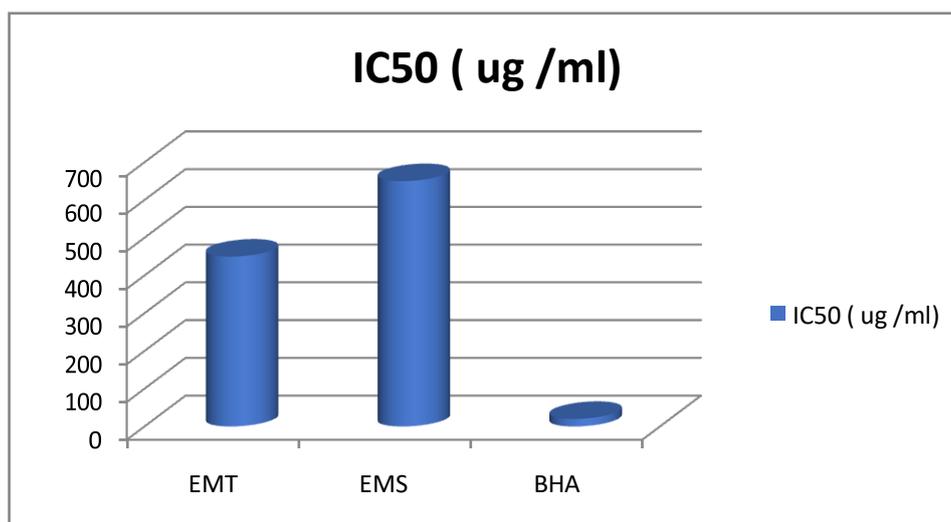


Figure 17: IC50 en ug/ml de BHA (Hydroxyanisole butylé) et des extraits Méthanoliques de *Nigella sativa L* récoltée dans deux régions différentes (Timimoune ,Syrie).

Nos résultats trouvés montre que l'activité antiradicalaire des extraits *du Nigella sativa L* est probablement liée à son contenu en polyphénols et en flavonoïdes. Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Sengul et coll., 2009; Riahi et coll., 2013**, qui ont montré que la teneur en polyphénols et en flavonoïdes la plus élevée est responsable de l'activité antioxydante.

En effet, *Nigella sativa L* de Timimoune représente un extrait actif. Les composés phénoliques semblent être de bons candidats pour leurs activités antioxydantes du fait de la présence de nombreux hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres (**Verzelloni et coll., 2007; Sengul et coll., 2009; Zhang et coll., 2011**).

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacités antioxydantes, l'activité de ces molécules à piéger les radicaux libres dépend essentiellement de leur structures ; les flavonoïdes les plus actifs sont ceux qui renferment des groupements 3'- 4' dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3 OH sur le cycle C (**Marfak, 2003 ; Sokol-Letowska, 2007**).

II.5. Activité antimicrobienne

A- Méthode d'antibiogramme

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Nigella sativa L*. vis-à-vis de quatre souches bactériennes et deux levures hautement pathogènes a été évaluée par la méthode de diffusion par disque. Les échantillons analysés sont constitués de deux huiles essentielles de

chémotypes différents appartenant à *Nigella sativa L.* de provenance géographique différente, (H1 Nigelle syrienne et H2 Nigelle saharienne d'Algérie : d'origine Timimoune).

Les résultats relatifs à l'activité des huiles essentielles envers les bactéries sont rapportés dans le **tableau 11**. Les diamètres des zones d'inhibitions nous ont permis d'évaluer la sensibilité ou la résistance des germes-cibles vis-à-vis d'antibiotique (ATB) de référence et de l'huile essentielle *Nigella sativa L.*

La Gentamycine (10ug) ($\varnothing = 18.88 \text{ mm}$) est utilisée comme antibiotique de contrôle des bactéries. La classification des souches bactériennes en catégories « Sensible, (S) » ou « Résistante, (R) » aux antibiotiques est définie par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2014).

Tableau N°11: les résultats de l'étude qualitative : détermination des diamètres des zones d'inhibition

	Diamètre des zones d'inhibition en mm	
Huiles étudiée	H1	H2
<i>Souches bactériennes</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	26.70 : 27.65 Moy = 27.18	28.95 : 28.28 Moy = 28.62
<i>Bacillus subtilis</i>	31.24 : 32.13 Moy = 31.69	28.74 : 29.21 Moy : 28.98
<i>Escherichia coli</i>	10.38 : 10.32 Moy = 10.35	10.26 : 10.17 Moy = 10.22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10.13 : 10.44 Moy = 10.29	9.53 : 9.80 Moy = 9.67
<i>Souches fongiques :</i>	R*	R*
<i>Candida albicans</i>	R*	12.10 : 11.23
<i>Saccharomyce cerevisiae</i>		Moy = 11.67 Fongistatique

NB : * = résistant ($\varnothing < 9 \text{ mm}$), non sensible

Selon l'échelle de sensibilité de l'activité antimicrobienne (**Rodriguez vaquero et al., 2007**), les huiles de *Nigella sativa L.* de provenance différente ont montré une extrême activité vis à vis des souches Gr + constituées par les *staphylococcus aureus* et les *Bacillus subtilis*. Cependant l'action inhibitrice de l'huile H1 sur *Bacillus subtilis* ($\text{Ø}=31.69$ mm) d'origine syrienne est meilleure que celle de l'huile H2 ($\text{Ø}=28.98$ mm) d'origine locale (**voir tableau 12**).

Concernant l'étude de l'action inhibitrice des huiles, nous notons une faible ou absence d'activité vis-à-vis des bactéries Gr- : *Escherichia coli* ($\text{Ø}=10.22$ à 10.35 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* ($\text{Ø}= 9.67$ à 10.22 mm) (**voir tableau 11**).

L'étude de l'activité antifongique des huiles vis à vis des deux champignons a montré une résistance de levures *Candida albicans* et *Saccharomyce cerevisiae* vis-à-vis des deux extraits. (**Tableau 11**).

Nos résultats trouvés concordent avec les données de **Mariam et Abu Al Basal (2009)**. Ils ont trouvé par la même méthode de diffusion sur disques, que la souche de référence *staphylococcus aureus* était la plus sensible parmi l'ensemble des souches testées ($\text{Ø} = 16.66$ mm). Cette grande sensibilité de *Staphylococcus aureus* à l'huile de nigelle, a été confirmée par la méthode des puits utilisé par **Mariam et Abu Al Basal (2009)**.

D'autres chercheurs ont confirmé l'absence d'activité prouvée par les travaux de **Kokdil et al., (2005)** et **Mariam et Abu-Al-basal (2009)**. Les travaux de **Harzellah** et son équipe (**2012**), ont prouvé que l'huile de nigelle a un très faible pouvoir d'inhibition sur *Escherichia coli* traduit par un $\text{Ø} = 7$ mm et reste modéré sur *Pseudomonas aeruginosa* avec un $\text{Ø} = 12.33$ mm. Nos résultats (**voir tableau 11**) confirment ces données avec un $\text{Ø} = 9.67$ mm pour *Pseudomonas aeruginosa* et reste modéré de 10.22 mm pour *Escherichia coli*. Nous venons de montrer que l'huile essentielle est plus efficace sur les Gr+ que sur les Gr- et ceci peut être attribué à la présence et la richesse en composés phénoliques qui constituent les graines de *Nigella sativa*. Citons le thymol et carvacrol isolés dans les herbes comme le thym qui sont de la famille de menthane. Les huiles contenant ces terpènes phénoliques se sont avérées particulièrement efficaces en tant qu'agents antibactériens (**Crozier et al.,2006**). Ces données confirment que la thymoquinone et le thymol d'huiles des graines de *Nigella sativa* ont des effets antibactériens sur les souches à Gr+ étudiées.

B-Méthode CMI

Des tests de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ont été réalisés afin de préciser le caractère bactériostatique ou bactéricide de l'huile essentielle *Nigella sativa* L.

Les résultats des CMI d'huile essentielle sur les bactéries sont rapportés dans le **tableau 12**

Les valeurs de CMI obtenus, ont montré que l'huile essentielle H1(Syrie) possède un pouvoir inhibiteur important sur les *Staphylococcus aureus* et les *Bacillus subtilis* avec des CMI de 0.06. Celles de l'huile essentielle H2(Timimoune) le maximum d'action est noté sur les bactéries les *Bacillus subtilis* avec CMI de 0.06.

Tableau N°12: les résultats de l'étude quantitative : détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).

Dilution H1*	2%	1%	0.5%	0.25%	0.125%	0.06%	0.03%
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	+
Dilution H2*	2%	1%	0.5%	0.25%	0.125%	0.06%	0.03%
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	+

Ces valeurs très faibles de la CMI démontrent que l'huile de Nigelle peut être utilisée comme antiseptique et remède naturel aux infections à *Staphylococcus aureus* et aux bactéries Gr+ en général et comme conservateur en agroalimentaire

Concernant la sensibilité des bactéries Gram négatif et des bactéries Gram positif vis-à-vis de l'extrait méthanolique et des huiles essentielles est déjà signalée par **Dahmani. (2019)**. Cette différence de sensibilité des souches microbiennes aux huiles essentielles peut être expliquée par une adaptation évolutive liée étroitement aux conditions biotiques (l'espèce elle-même) et abiotique (milieu). En général, selon la littérature une grande variabilité de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis des différentes souches est observée. Selon **Guillen et Manzanos (1998)**, l'activité antibactérienne des extraits doit être attribuable à la présence de plusieurs types de composés appartenant à différentes classes, tels que les

polyphénols et les flavonoïdes et d'après Çolak et al., (2009), la sensibilité d'un microorganisme à un extrait dépend des polyphénols et du microorganisme lui-même.

Dans notre étude, les bactéries à Gram positive testées sont plus sensibles que les souches à Gram négative. Cette différence dans la sensibilité aux extraits peut être attribuée à la différence de la structure entre les bactéries Gram positive et les bactéries Gram négative (Shtayeh et al., 1998). Selon Yakhlef et al., (2011), la résistance de la bactérie à Gram négative n'est pas surprenante du fait que ces bactéries possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides qui est en relation avec la nature de leurs membranes externes composées de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. De plus, Trombetta et al., (2005) ont conclu, l'effet antimicrobien des composés polyphénoliques est partiellement dû à une perturbation des fractions lipidiques de la membrane plasmique des bactéries. Selon toujours ces auteurs, ces composés phénoliques altèrent la perméabilité de la membrane et causent ainsi la perte de ses organites intracellulaires. D'autres auteurs, Dhaouadi et al., (2010) suggèrent que l'effet antimicrobien des polyphénols induit l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur la membrane cellulaire et leur interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques.

Conclusion

Conclusion

Les localités géographiques et le type huile et extrait ont un effet le screening phytochimique, la teneur en polyphénols et en flavonoïdes et l'activité de piégeage des radicaux DPPH de la plante *Nigella sativa L.* récoltée des deux pays différentes (Timimoune et Syrie).

Le criblage phytochimique a révélé la présence d'une quantité importante des flavonoïdes et des stérols dans les deux régions. Alors que les saponines, les quinones et les coumarines sont présentes seulement dans les graines la région de Timimoune avec une quantité moyenne

Les extraits de *Nigella sativa L.* étendue dans la station de Timimoune vue leur richesse en poly phénols sont pourvus d'un pouvoir antioxydant élevé par rapport à celui des extraits de Syrie.

Concernant l'effet antimicrobien, l'analyse a fait ressortir d'une part une activité inhibitrice importante des huiles essentielles des deux pays sur les germes multi résistants responsables des maladies infectieuses (les *Staphylocoques*, et *B.cereus*) et d'autre part une action faible à l'encontre des levures *Candida albicans* et *Saccharomyce cerevisiae*.

En conséquence, cette différence est principalement due du climat des deux régions: Timimoune (type hyper-aride) et Syrie (type semi-aride)

Ainsi, il serait judicieux de reprendre nos essais dans des conditions meilleures. Etudier plusieurs paramètres physiologiques (teneur en eau, turgescence et teneur en chlorophylle a, b et totale) sur plusieurs espèces de plantes accompli et des paramètres biochimiques (teneur en proline et en sucres solubles). De même, il faut prendre en considération d'autres paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques.

Références Bibliographiques

A

- ❖ **Aftab Ahmad^{1*}, Asif Husain², Mohd Mujeeb³, Shah Alam Khan⁴, Abul Kalam Najmi⁵, Nasir Ali Siddique⁶, Zoheir A. Damanhour⁷, Firoz Anwar.**2013. A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herbae Asian. *Pac J Trop Biomed*; 3(5): 337-352.
- ❖ **Ahmed MS, Honda G, Miki W (1979)** Herbs and herbalists in the Middle East. Institute for the study of languages and cultures of Asia and Africa, Tokyo.
- ❖ **Al Jassir M.** Chemical composition and microflora of Black cumin (*Nigella sativa*) seed growing in Saudi Arabia, *Food chemistry* 1992,45 :239-242.
- ❖ **Al-Gaby AM** : Amino acid composition and biological effects of supplement ing broadbean and corn proteins with *Nigella sativa* (black cumin) cake protein. *Nahrung* 1998 ;42 :290-294.
- ❖ **Ali, M.A., M.A. Sayeed, M.S. Alam, M.S. Yeasmin, A.M. Khan, I.I. Muhamad.,(2012).** Characteristics of oils and nutrient contents of *Nigella sativa* linn. And *trigonella foenum-graecum* seeds. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, 26(1): 55-64.

- ❖ **Alireza Tavakkoli¹, Vahid Mahdian², Bibi Marjan Razavi³ and Hossein Hosseinzadeh(2017).** Review on Clinical Trials of Black Seed (*Nigella sativa*) and Its Active Constituent, Thymoquinone. *Journal of Pharmacopuncture* 2017;20[2]:107-111.
- ❖ **Amarck L.** 1816. *Encyclopédie méthodique : Botanique*. Volume 4. Institut national de France. 489p.
- ❖ **Anton r., Teuscher E., Lobstein-Guth A., Bauermann U., Werner M., Rohrer C., et al.** *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Paris: Médicales internationales; 2005.
- ❖ **Asdadi¹ Ali *, Hicham Harhar², Saïd Gharby², Zakia Bouzoubaâ³, Adil El Yadini⁴, Radouane Moutaj⁵, Miloud El Hadek.**2014., **Bouchra Chebli⁷ and Lalla Mina Idrissi Hassani¹.**2014. Chemical Composition and Antifungal Activity of *Nigella Sativa* L. Oil Seed Cultivated In Morocco ;Volume (3) PP.09-15.
- ❖ **Atta M. B., 2003.** Some characteristics of *nigella* (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry*, vol. 83, n. 1, pp. 63-68.
- ❖ **Atta U.R., Malik S., Cun-Heng H., Clardy J. (1985a).** Isolation and structure determination of nigellidine, a novel alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron letters*.26: 2759-2762.
- ❖ **Atta U.R., Malik S., Zaman K. (1992).** Nigellimine, a new isoquinoline from the seeds of *Nigella sativa*. *Journal of natural products*.55: 676-678.
- ❖ **Atta U.R., Malik S., Ahmed S., Choudhary M.I., Habib-ur-Rehman. (1985b).** Nigellimine-N-oxide-a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Heterocycles*.23: 935-955.

- ❖ **Atta, M.B., Imaizumi, K.** (1998) Antioxidant activity of nigella (*Nigella sativa* L.) seeds extracts. JAPAN Oil Chemists' Society. 47: 49-54.
- ❖ **Atta-Ur-Rahman M., Hassan S., Coudhary M., Ni C., Clardy J.** Nigellidine: a new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. Tetrahedron letters. 1995; 36: 1993-1996.

B

- ❖ **Badiaga, M.** (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.
- ❖ **Baser Khc, Honda G, Miki W** (1986) Herb drugs and herbalists in Turkey. Institute for the study of languages and cultures of Asia and Africa, Tokyo.
- ❖ **Bendekken M.**, 1994. Extraction de l'essence de nigelle par solvants volatils et par hydrodistillation. Thèse d'ingénieur en génie chimie, Ecole Nationale polytechnique, El Harrach, 85 p.
- ❖ **Benkaci-Ali F**, 2007. Etude de la composition chimique de la nigelle sativa originaire d'Algérie. Thèse de doctorat d'état en chimie organique appliquée, USTHB, 216.p.
- ❖ **Bonnier, G.** 1990 La grande flore en couleur. Ed Belin, Paris. Tome 1. pp: 17.
- ❖ **Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhar, Z., Kilar, F., Felinger, A.** (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. Journal of Chromatography A.
- ❖ **Boudiaf K.**, (2006). Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Thèse de magistère. Département de biologie. Université Ferhat abbas. (Sétif) Algérie.
- ❖ **Bourgou S ;Ksouri, R ;Bellila, A ;Skandrani, I ;Fallah H. Marzouk, B.** (2005). Phenolic composition and biological activities of tunisian *Nigella sativa* L. shoot and roots. C.R. Biol 2008.331.48-55.
- ❖ **Bousbia, N.**, 2004. Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin) : étude de leurs activités antimicrobiennes. Thèse de magister en sciences alimentaires, (INA), El Harrach, 130 p.
- ❖ **Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C**, 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm.-Wiss. U. Technol, 28: 25-30.
- ❖ **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- ❖ **Burits M, Bucar F.** (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotherapy research. 14: 323-328. repéte.
- ❖ **Burtej, N.** 1992. le bon jardinier, encyclopédie horticole volume 3, La maison rustique, Paris : P 12.
- ❖ **Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., Marzouk, B.** (2008) Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. Comptes Rendus Biologies 331: 48-55.

- ❖ **Boudiaf, K. (2006) Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de Nigella sativa.** Thèse de magistère. Département de biologie. Université Ferhat abbas. (Sétif) Algérie.

C

- ❖ **Canonica L., Jommi G., Scolastico C., & Bonati A. (1963).** The pharmacologically active principle in *Nigella sativa*. *Gazzetta chimica italiana* 93:1404-1407.
- ❖ **Cheers.,1997.** *Botanica ,encyclopédie de Botanique et d'horticulture* Könemann,Köngswinter,Allmagne .p12.
- ❖ **Cheikh-Rouhou S., Besbes S., Hentati B., Blecker C., Deroanne C., Attia H., 2006.** *Nigella sativa L.: chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction.,J. Food chem.* 02, 022, pp 1-13.
- ❖ **Chopra S.L. (1956).** Nayar.I.C. chopra.Glossary of indian Médicinal plants. New Delhi.175.

D

- ❖ **Daing MI, Pathak A, Bhat MA, Sharma R, Zargar MA (2017).** In vitro Antioxidant and Antibacterial Efficacy of Condensed Tannins Containing Tree Leaves Extract of Jammu Province. *Journal of Animal Research* 7, 165.
- ❖ **Davis PH, 1965.** *Nigella L.* In: Davis PH (ed.). *The Flora of Turkey and East Aegean Islands*, Edinburgh University Press. Edinburgh. Vol. 1, pp. 98-105.
- ❖ **De Souza PO, Bianchi SE, Figueiró F, Heimfarth L, Moresco KS, Gonçalves RM, Hoppe JB, Klein CP, Salbego CG, Gelain DP (2018).** Anticancer activity of flavonoids isolated from *Achyrocline satureioides* in gliomas cell lines. *Toxicology in Vitro* 51, 23-33.
- ❖ **Djeridane A., Yousfi M., Najemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry* 97: 654-660.
- ❖ **Ducros AH, (1930).** Essai sur le droguier populaire arabe de l'Inspectorat des pharmacies du Caire. *M6m Inst d'Egypte* 15:166.

E

- ❖ **El-Guendouz S, Al-Waili N, Aazza S, Elamine Y, Zizi S, Al-Waili T, Al-Waili A, Lyoussi B (2017).** Antioxidant and diuretic activity of co-administration of *Capparis spinosa* honey and propolis in comparison to furosemide. *Asian Pacific journal of tropical medicine* 10, 974-980.
- ❖ **El-Saleh, S.C., Al-Sagair, O.A., Al-Khalaf, M.I. (2004)** Thymoquinone and *Nigella sativa* oil protection against methionine-induced hyperhomocysteinemia in rats. *International journal of cardiology.* 93: 19-23.
- ❖ **Eric Yarnell, ND, and Kathy Abascal, BS, JD, RH (AHG).(2011).** *Nigella sativa.* MARY ANN LIEBERT, VOL. 17 NO.

❖

F

- ❖ **Fleuri et, A. (1982).** Thèse Doc. Etat, Montpellier.
- ❖ **Francis G, Kerem Z, Makkar HP, Becker K (2002).** The biological action of saponins in animal systems: a review. *British journal of Nutrition* 88, 587-605.

G

- ❖ **Gali –Muhtasib H, Roessner A and Schneider –Stock R. 2006.** :thymoquinone :à promissing anti –canser drug from natural sources .Int J bochem cell Biol :38 :1249-1253.
- ❖ **Gardés –Albert M ., Bennefont-Rousselot D ., Abedinzaden Z., et Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygéné :comment l'oxygène peut –il devenir toxique ? Actualité chimique, pp91-95.
- ❖ **Gareeballa Osman Adam, Md. Mahbubur Rahman, Sei-Jin Lee³, Gi-Beum Kim², Hyung-Sub Kang, Jin-Shang Kim, Shang-Jin Kim² . (2015).** Hepatoprotective effects of Nigella sativa seed extract against acetaminophen-induced oxidative .9(3) :221-227.
- ❖ **Ghedira K. et Le Jeune R. 2010.** Huile de nigelle cultivée, Nigella sativa L. (Ranunculaceae). Phytothérapie 8 :124-128.
- ❖ **Ghedira K. (2006).** La nigelle cultivée :Nigella sativa L. (Ranunculaceae). phytothérapie. 4 :1-7.
- ❖ **Gilani A, Jabeen Q, Ullahkhan M (2004)** A review of medicinal use and pharmacological activities of Nigella sativa .Pak J Biol Sci 7 :441-451.
- ❖ **Goreja WG. (2003).** Black Seed: Nature's Miracle Remedy. New York, NY 7 Amazing Herbs Press; .
- ❖ **Granato D, Shahidi F, Wrolstad R, Kilmartin P, Melton LD, Hidalgo FJ, Miyashita K, van Camp J, Alasalvar C, Ismail AB (2018).** Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods? Food chemistry 264, 471-475.
- ❖ **Greenich, H (1880).** Contribution to the chemistry of Nigella sativa (vol.10) pharmac J Trans.
- ❖ **Gürsoy F, Mursaleen M, Karakaya V, Ertürk M (2012).** Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. Clin Infect Dis ;54(5) :652-60.

H

- ❖ **Harborne J. B., Tomás-Barberán F. A., Williams C. A. et Gil M. I. (1986).** A chemotaxonomic study of flavonoids from European Teucrium species. Phytochem., 25: 2811-2816.
- ❖ **Hertog MGL, Hollman PCH, Van de putte B (1993).** Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41, 1242
- ❖ **Hess, H.E., Landolt E. et Hirzel R. (1976-1980).** Flora der Schweiz und angrenzender Gebiete. 3 vols, 2690 pp. 2. Ed., Birkhäuser Verlag, Basel.
- ❖ **Hosseinzadeh, H., S. Parvardeh., (2004).** Anticonvulsant effects of thymoquinone,
- ❖ **Houghton, P.J., Zarka, R., de las Heras, B., Houtt, 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.

J

- ❖ **Jadhav,A.N,Bhutani K.k,**ayurveda and aynecological disorders.J.Ethnopharmacol 2005.97 .1561-159.
- ❖ **Jansen P. C. M.(1981).** Spices, Condiments and Medicinal Plants in Ethiopia, their Taxonomy and Agricultural Significance. Center for Agricultural Publishing and Documentation, Addis Ababa, pp. 76-85
- ❖ **Jansen PCM. (1999).** Minor essential-oil plants. In: Oyen LPA, Nguyen Xuan Dung (Eds.), plant resources of south-east Asia, No. 19, essential-oil plants, Bakhuy Publishers, Leiden, pp.173-184.

K

- ❖ **Kehili · S. Saka · O. Aouacheri .(2017).**L'effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella sativa*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats.
- ❖ **Khanna T, Zaidi FA, Dandiya PC. (1993).** CNS and analgesic studies on *Nigella sativa*. *Fitoterapia* 64: 407-410.
- ❖ **Khar CP (2004)** Encyclopedia of indian medicinal plants .Spinger,New york.
- ❖ **Kökdil G., Delialioğlu N., Özbilgin B., EmekdaşG. (2005).** Antilisterial activity of ballota species growing in turkey antibacteria activity screening of nigella l. species growing in turkey. Mersin University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, Yenişehir Campus, 33169 Mersin, TURKEY. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 34 (3) 183 - 190 .
- ❖ **Kokoska L. (2011).** Chemistry and Biological Activity of *Nigella* Genus : The antimicrobial and anti-inflammatory effects of seed extracts, essential oils and compounds of six *Nigella* species. Edition : LAP LAMBERT Academic publishing GmbH & Co.KG. U.S.A. pp 1.

L

- ❖ **Laura Bordoni 1 , Donatella Fedeli 1 , Cinzia Nasuti 2 , Filippo Maggi 3 , Fabrizio Papa 4, Martin Wabitsch 5, Raffaele De Caterina 6 and Rosita Gabbianelli (2019).**Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Nigella sativa* Oil in Human Pre-Adipocytes.*Antioxidants* ;2019, 8, 51.
- ❖ **Lautenbacher LM.(1997).**Schwarzkümmelöl.Dtsch Apoth Ztg 137 :68-69.
- ❖ **Lim.(2013).***Nigella sativa* :T.K Lim(ed). Edible medicinal and Non-medicinal plants .Springer Dordrecht Heidelberg New York London .springer.Vol.5, fruit, pp.506-555.

M

- ❖ **Maire A, Savelli A (1955)** In Salah et le Tidikelt oriental, Etude historique, géographiques et médicale. *Arch Insta Pasteur Alger* 33(4): 367-432.
- ❖ **Marfak A, 2003.** Radiolyse Gamma des flavonoides. Etude de leur reactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat, 220p.
- ❖ **Mariam A., Abu-Al-Basal. (2009).** In vitro and in vivo anti-microbial effects of *nigella sativa* linn. seed extracts against clinical isolates from skin wound infection . *American Journal of Applied Sciences* 6(8): 1440-1447.
- ❖ **Meral, I., Yener, Z., Kahraman, T., Mert, N. (2001)** Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defence system and liver damage in

experimentally- induced diabetic rabbits. The Journal of Veterinary Medical Science. 48: 539-599.

- ❖ **Merfort I., Wray V., Barakat H.H., Hussein S.A.M., Nawwar M.A.A. et Willuhn G. (1997).** Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. phytochemistry. 46(2): 359-363.
- ❖ **Mohammad Akram Randhawa¹, Awwad Khalaf Alenazy², Majed Gorayan Alrowaili³, Jamith Basha (2016).**An active principle of *Nigella sativa* L., thymoquinone, showing significant antimicrobial activity against anaerobic bacteria; Journal of Intercultural Ethnopharmacology .Vol 6.
- ❖ **Mokkedem A., 2004.** Guide pratique des cultures en secs de quelques plantes médicinales.
- ❖ **Mpondo EM, Yinyang J, Dibong S (2015).**Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). Journal of Applied Biosciences 85, 7804–7823.

O

- ❖ **Omar A,Ghosheh S,Abdulghani A,Houdi Aand crookscor PA.(1999).** High Performance Liquide Chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the Black Seed (*Nigella Stiva* L.) phrma Biomed Anal 1999 ;19 :757-762.
- ❖ **Owen, RW, R Haubner, WE Hull, G Erben, B Spiegelhalder, H Bartsch, B Haber. (2003).** “Isolation and Structure Elucidation of the Major Individual Polyphenols in Carob Fibre.” Food and Chemical Toxicology 41 (12): 1727–38.
- ❖ **Ozenda P.(2000)** Les végétaux : organisation et diversité biologique. Paris: 2ème édition Dunod; 2000.

P

- ❖ **Pak. J.(2011).** *Nigella sativa*: the miraculous herb. Biochem; 44: 44-48.
- ❖ **Passager P, Brabançon S (1956)** Taghit (Sahara oranais) : ~étude historique, géographique et médicale. Arch Inst Pasteur Alger 34(3): 404-475.
- ❖ **Pellegrini N.,Serafini M.,Colombi B., Rio D.D.,Salvatore S.,Blanchi M.et Bringhenti F.(2003)** Total antioxydant capacity of plant food,beverage and oils consumed in italy assessed by three different in vitro assays.J,Nutr,133 :2812-2819.
- ❖ **Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M., 2001.** Antioxydants in food, Practical applications.
- ❖ **Panch phoron.** Consulté le 29 Février 2012, sur Wikipedia, The Free Encyclopedia: http://en.wikipedia.org/wiki/Panch_phoron.

R

- ❖ **Rai A, Das S, Chamallamudi MR, Nandakumar K, Shetty R, Gill M, Sumalatha S, Devkar R, Gourishetti K, Kumar N (2018).** Evaluation of the aphrodisiac potential of a chemically characterized aqueous extract of *Tamarindus Indica* pulp. Journal of ethnopharmacology 210, 118-124.

- ❖ **Rakotonanahary, M. (2012).** thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier.
- ❖ **Ramadan M.F., Mörsel J.T., 2004.** Oxidative stability of black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) crude seed oils upon stripping. *European journal of lipid science and technology*, n.1, pp. 35-43
- ❖ **Razika L, Thanina AC, Nadjiba CM, Narimen B, Mahdi DM, Karim A (2017).** Antioxidant and wound healing potential of saponins extracted from the leaves of Algerian *Urtica dioica* L. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences* 30.
- ❖ **Reylli A. ;Oster M.,2003.** Guide des annuelles et vivaces. Modus Vivendi, Paris. p12.
- ❖ **Riahia L, Chogranib H, Elferchich M, Zaouali Y, Zoghlamia N, Mlika A, 2013.** Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic contents between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities *Ind. Crops. Prod.* 46, 290– 296.
- ❖ **Riaz M, Syed M, Chaudhary FM, 1996.** Chemistry of the medicinal plants of the genus *Nigella*. *Hamdard Medicus*, 39: 40-45.
- ❖ **Roginsky V. et Lissi E.A.(2005).** Review of Methode to determine chain –breaking antioxydant activity in food .*Food chemistry* .92 :235-254.

S

- ❖ **Salvador JP, Tassies D, Reverter JC, Marco MP (2018).** Enzyme-linked immunosorbent assays for therapeutic drug monitoring coumarin oral anticoagulants in plasma. *Analytica chimica acta* 1028, 59-65.
- ❖ **Sayed Masoud Hosseini 1, Elahe Taghiabadi 2, Khalil Abnous 3, Alireza Timcheh Hariri 4, Hamed Pourbakhsh 5, Hossein Hosseinzadeh .(2017).** Protective effect of thymoquinone, the active constituent of *Nigella sativa* fixed oil, against ethanol toxicity in rats .*Iran J Basic Med Sci* 2017; 20:927-939.
- ❖ **Seher Nancy Bakal, Stefan Bereswill, Markus M. Heimesaat .(2017).** finding novel antibiotic substances from medicinal plants – antimicrobial properties of *nigella sativa* directed against multidrug-resistant bacteria ;*European Journal of Microbiology and Immunology* 7 (2017) 1, pp. 92–98
- ❖ **Sengul M, Yildiz H, Gungor N, Cetin B, Eser Z, Ercisli S, 2009.** Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pak. J. Pharm. Sci.* 22, 102-106.
- ❖ **Sijelmassi A (1991)** Les plantes médicinales du Maroc. Le Fennec, Casablanca.
- ❖ **Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R.M., 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu.
- ❖ **Skerget M., Kotnik P., Hadolin.M., Hras A.R., and SimonicM., Knez Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chem.* 89: 191-198.
- ❖ **Spichiger R.E. ; Savolainen V.V. ; Figeat M. ; Jeanmonod D.(2002).** Botanique systématique des plantes à fleurs. Lausanne: 2ème édition Presses polytechniques et universitaires romandes; 2002.

- ❖ **Sultan MT, Butt MS, Anjumi FM, Jamil A, Akhtar S, Nasir M(2009).** Nutritional profile of indigenous cultivar of black cumin seeds and antioxidant potential of its fixed and essential oil. *Pak. J. Bot* 2009; 41(3): 1321-1330.
- ❖ **Sunita Singh,1 S. S. Das,1 G. Singh,1 Carola Schuff,2 .(2014).** Marina P. de Lampasona,2 and César A. N. Catalán² Composition, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil and Oleoresins Obtained from Black Cumin Seeds (*Nigella sativa* L.) ; Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Volume 2014, , 10 pages.

T

- ❖ **Tariq Mahmood¹, Muhammad Idress¹, Muhammad Aslam¹, H. S. Rehman¹, Hafiz M. Akram¹, Abdus Sattar¹, S. Abbas¹ and *Malik F. H. Ferdosi.(2012).** Growth and yield attributes of black cumin (*Nigella sativa* L.) as affected by sowing dates and methods,(2012). *Mycopath* 10: 83-86.
- ❖ **Taskin M.k., Alankus Caliskan O., Anil H., Abou-gazar H., Khan A.I., Bedir E. (2005).** Triterpène saponins from *Nigella sativa* L. *Turkish Journal of Chemistry*.29: 561-569.
- ❖ **Teuscher E. , Anton R., Lobstein A., 2005.** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Lavoisier, Paris, 522 p.
- ❖ **Thippeswamy, N.B., Akhilender, N.K. (2005)** Antioxidant potency of cumin varieties-cumin, black cumin and bitter cumin-on antioxidant systems. *European food research and technology*. 220: 472- 476.

V

- ❖ **Verzelloni E, Tagliazucchi D, Conte A, 2007.** Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsam vinegar. *Food. Chem.*105, 564-571.
- ❖ **VonarburgB. (1998).** *Natürlich*. (18), pp. 65-68.

U

- ❖ **Usman H, Kaigama AU, Ibisagba OO, Fulata AM, Ahmed IA (2018).** Phytoconstituents evaluation and antimicrobial efficacy of the crude flavonoids and saponins rootbark extracts of *Terminalia avicennioides* and *Ficus polita*. *Journal of Herbmed Pharmacology* 7, 106-111.

Y

- ❖ **Yi Z., Yan Y., Liang Y., and Zeng B. (2008).** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus Cultivar and its main flavonoid. *LWT*, 41:597-603.

Z

- ❖ **Zhang L, Ravipati AS, Koyyalamudi SR, Jeong SC, Reddy N, Smith PT, Bartlett J, Shanmugam K, Münch G, Wu MJ, 2011.** Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected medicinal plants containing phenolic and flavonoid compounds . *J. Agric. Food. Chem.* 59, 12361–12367.

- ❖ **Zineb Mammad1, K. Mammad2, T. Aqeil3, A. Kribii4, and K. Ounine1** .2017. Antibacterial and Antioxidant activity of Nigella Sativa . International Journal of Innovation and Scientific Research .Vol. 31. pp. 167-172
- ❖ **Zouaghi,N.1985** Extraction des huiles essentielles des graines de Nigella sativa par entraînement à la vapeur d'eau, thèse d'ingénieur en génie chimie (ENP), El Harrach, 96 p.
- Sites :

" : https://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9ographie_de_la_Syrie

' : <https://fr.db-city.com/Algérie--Adrar--Timimoun--Timimoun>

Annexe

➤ **Tableaux :****Tableau 05 :** Taux de tempirature du region de Timimoune (2015 à 2019)

Moins	jan	Fév	Mars	avril	mai	juin	juil	aout	sept	oct	nov	déc
Temp C°	19	22	27	31	36	42	45	44	40	33	25	20

Tableau 06: Taux de température du région de Syrie (2015 à 2019)

Moins	jan	Fév	Mars	avril	mai	juin	juil	aout	sept	oct	nov	déc
Temp C°	13	18	21	28	31	37	40	39	36	29	21	16

Tableau 03 :taux de précipitations du région de Timimoune (2010 à 2019)

Moins	jan	Fév	Mars	avril	mai	juin	juil	aout	sept	oct	nov	déc
Pluvio mm	1	2	3	7	2	4	4	5	5	3	2	1

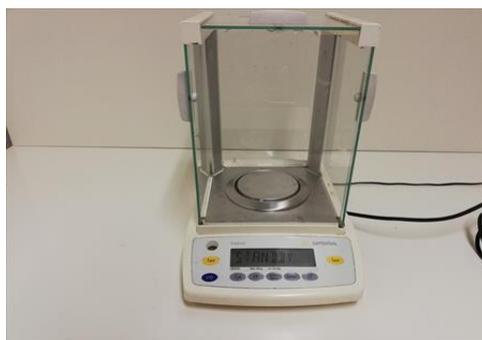
Tableau 04 :taux de précipitations du région de Syrie(2010 à 2019)

Moins	jan	Fév	Mars	avril	mai	juin	juil	aout	sept	oct	nov	déc
Pluvio mm	10	5	8	4	1	0	0	0	0	1	22	5

➤ **Matériel utilisé**

Agitateur**flacons en verre****Evaporateur Rotatif****spectrophotomètre
UV/VIS****Bec bunsen**

Balance



Etuve



Microscope

