

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIRA de Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Alimentaires

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat
En
« Sciences Alimentaires »

Thème

***Etude in vitro et in vivo de l'activité
antioxydante des extraits des graines de
Nigella sativa L. et Nigella damascena L.***

Préparé par :

☀ **BENBOURICHE Aicha**
☀ **BOUDIAB Kahina**

Membre de Jury :

Présidente : M^{me} FELLA S. M.A.A.

Promotrice : M^{me} SMAIL L. M.A.A.

Examinatrices :

M^{me} BOULEKBACHE L. Dr
M^{me} IKHENECHÉ F. M.A.A

Année universitaire : 2011/2012

Remerciements

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le bon Dieu tout puissant de nous avoir donné la santé et la patience pour réaliser ce travail.

Nos remerciements s'adressent à :

Notre promotrice M^{me} SMAIL L. (née NENAZZOUZ) pour avoir accepté de nous encadrer et pour ses conseils.

Tous les membres du laboratoire de 3BS où ce travail a été réalisé à leur tête M^r MADANI le responsable du labo pour leurs facilités.

L'équipe du laboratoire d'analyse médicale Djama pour leur aide.

M^{me} FELLA S. pour avoir accepté de présider le jury et d'évaluer ce travail.

M^{me} BOULEKBACHE L. et M^{me} IKHENECHÉ F. d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Dédicaces



Je dédie ce travail à :

Ma très chère mère que je remercie infiniment pour son aide et d'être toujours à mes cotés, que Dieu lui récupère toutes ses sacrifices, je n'oublierais jamais ce que tu as fait pour moi.

Mon très cher mari Mustapha, pour sa patience, son aide et ses encouragements. Que Dieu te garde et te protège.

Mon très cher frère : Lahlou, que Dieu le soutient au bon chemin et le protège.

Mes très chères sœurs : Meriem, Rahma pour leurs soutient, Radhia que je lui souhaite de réussite, Zahia que je remercie, Oum-Essaad et Adila.

Je vous souhaite tout le bonheur.

Mes chers cousins : Seif-Elislam et Zakaria.

Mes chers oncles Hassan et Mouhend et ma tante Tassadit.

Toute ma famille BENBOURICHE et celle de mon mari BACHIR BEY.

Mes chères amies : Hassina et Fouzia, surtout, Yamina et Oarda

Ma binôme et très chère amie Kahina.

Je prie ALLAH de nous rassembler dans son paradis et à côté de son prophète Mouhamed (Satisfaction et salut de Dieu sur lui)



Aicha

Dédicaces

Avant propos ,

Je tiens à remercier Dieu, qui illumine ma route à chaque lever, qui me guide sur le droit chemin, qui approfondit et renforce ma foi et, qui a fait de moi ce que je suis, par Bismi Allah El Rahmane El Rahim!

Je dédie ce travail à :

A ceux qui nous ont tout donné sans rien en retour

A ceux qui nous ont encouragés et soutenues dans les moments les plus difficiles Et ceux à qui nous devons tant.

A MES PARENTS :

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma reconnaissance et ma profonde affection. Je ne saurais vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi, et ce que vous faites jusqu'à présent. Que Dieu vous garde et vous accorde longue vie.

A ma grand-mère, mes frères, mes sœurs, mes oncles, mes tantes et mes cousins.

A toute la famille BOUDIAB.

A tous mes Amies.

A toute la promotion SA et CQA (2011-2012)

A Aicha et toute sa famille

Kahina



Liste des abréviations

- BCG** : Vert de Bromocrésol
- BHT**: Butylated hydroxytoluen
- BSA**: Sérum Albumine Bovine
- CAP** : Capacité Antioxydante Plasmatique
- CAT**: Catalase
- CLT** : groupe contrôle témoin
- CE** : Colorimétrie Enzymatique
- CHE** : Cholestérol Estérase
- CYP**: Cytochrome P450
- DPPH** : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl
- EBrND** : Extrait brut *Nigella damascena*
- EBrNS** : Extrait brut *Nigella sativa*
- EOR** : Espèces Oxygénées Réactives
- G6PD** : Glucose-6-phosphate deshydrogénase
- GPx** : Glutathion Peroxydase
- GR** : Glutathion Réductase
- GSH** : Glutathion Réduit
- GSSG** : Glutathion Oxydé
- HPLC**: High-Performance Liquid Chromatography
- KRL** : Kit Radicaux Libres
- NADH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit
- ND** : *Nigella damascena*
- NS** : *Nigella sativa*
- ONAB** : Office National des Aliments de Bétails
- POD**: Peroxydase
- RL** : radicaux libres
- RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire
- RPE** : Paramagnétique électronique
- SDS**: Sodium Dodesyl Sulfate
- SM** : Spectrométrie de Masse
- SOD**: Superoxyde Dismutase

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Appareil végétatif de <i>Nigella sativa</i> L. et <i>Nigella damascena</i> L.	5
02	Photographie des graines de <i>N. damascena</i> (à gauche) et <i>N. sativa</i> (à droite)	5
03	Structures de trois flavonoïdes triglycosidiques isolés à partir des graines de <i>Nigella sativa</i> L.	7
04	Structure chimique de la damascenine	8
05	Structures chimiques de quelques composés phénoliques de <i>Nigella damascena</i> L.	9
06	Décomposition du peroxyde de benzoyle	13
07	Sources endogènes des radicaux libres	14
08	Espèces réactives d'oxygène et leurs cibles	14
09	Principales étapes de production des radicaux libres oxygénés	16
10	Piégeage des ROS (R·) par les flavonoïdes	20
11	Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes	20
12	Différentes classes des composés phénoliques	21
13	Structure de l'acide benzoïque (1) et caféique (2)	22
14	Structure de base des flavonoïdes	22
15	Structures chimiques des tannins (condensés à gauche et hydrolysable à droite)	23
16	Souris <i>Swiss albinos</i>	24
17	Loge des souris	24
18	Filtrat de nigelle	25
19	Evaporation des extraits par rotavapor (R-210 BUCHI)	25
20	Protocole de préparation des extraits de nigelles	26
21	Protocole de dosage des polyphénols totaux	27
22	Protocole de dosage des flavonoïdes	27
23	Protocole de dosage des tannins	28
24	Protocole de l'évaluation du pouvoir réducteur	29
25	Réduction du radical DPPH par un antioxydant	30
26	Protocole de mesure de l'activité anti-radicalaire <i>in vitro</i>	30
27	Anesthésie (a) et prélèvement sanguin par ponction cardiaque (b et c)	31
28	Protocole de mesure de l'activité anti-radicalaire <i>in vivo</i>	32
29	Protocoles des analyses biochimiques du plasma des souris	34
30	Teneurs en composés phénoliques de <i>Nigella sativa</i> et <i>Nigella damascena</i>	38
31	Résultats du test pouvoir réducteur	38
32	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits des graines de <i>Nigella sativa</i> L. et de <i>Nigella damascena</i> L.	39
33	Capacité antioxydante plasmatique vis à vis du radical DPPH	41
34	Teneurs du plasma en protides et albumine	41
35	Glycémie des souris	42
36	Teneurs du plasma en urée, cholestérol et triglycérides	42

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Noms communs de <i>N. sativa</i> L.	3
II	Composition chimique de 100 grammes de graines de nigelle	6
III	Teneurs en acides phénoliques de l'extrait méthanolique de <i>Nigella sativa</i> L.	7
IV	Quelques composés des graines de <i>Nigella damascena</i> L.	8
V	Principales espèces réactives d'oxygène	16
VI	Méthodes de mesure des paramètres biochimiques des plasmas	33
VII	Rendement d'extraction	36
VIII	Teneurs en composés phénoliques de <i>N. sativa</i> L. et <i>N. damascena</i> L.	37
IX	Pouvoir réducteur des extraits de <i>Nigella sativa</i> L. et <i>Nigella damascena</i> L.	39
X	Résultats des analyses biochimiques des plasmas des souris (g/l)	41

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la nigelle

1. Historique	2
2. Généralités	2
3. Noms communs (vernaculaires)	3
4. Aspect botanique	4
4.1. Classification	4
4.2. Description botanique	4
4.2.1. Description botanique de <i>Nigella sativa</i> L. (NS)	4
4.2.2. Description botanique de <i>Nigella damascena</i> L. (ND)	4
5. Composition chimique des graines de nigelle	6
5.1. Composition chimique des graines de <i>Nigella sativa</i> L.	6
5.2. Composition chimique des graines de <i>Nigella damascena</i> L.	8
6. Effets thérapeutiques des plantes étudiées	9
6.1. Effets thérapeutiques de <i>Nigella sativa</i> L.	9
6.2. Effets thérapeutiques de <i>Nigella damascena</i> L.	11

Chapitre II : Stress oxydatif et activité antioxydante

1. Stress oxydatif et radicaux libres	12
1.1. Stress oxydatif	12
1.1.1. Origine du stress oxydatif	12
1.1.2. Conséquences du stress oxydatif	12
1.2. Radicaux libres	13
1.2.1. Définition	13
1.2.2. Origine des radicaux libres	13
1.2.3. Principaux radicaux libres	15
1.2.4. Rôle fonctionnel des radicaux libres	16
1.2.5. Toxicité des radicaux libres	17
2. Activité antioxydante	17
2.1. Définition d'un antioxydant	17
2.2. Systèmes de défense antioxydante	17
2.2.1. Systèmes enzymatiques	17
2.2.2. Systèmes non enzymatiques	18

Partie pratique

Matériel et méthodes

1. Matériel biologique	24
1.1. Matériel végétal	24
1.2. Matériel animal	24
2. Méthodes	24
2.1. Test d'humidité	24
2.2. Séchage	25
2.3. Broyage et tamisage	25
2.4. Procédure d'extraction des composés phénoliques	25
2.5. Dosage des composés phénoliques	26
2.5.1. Dosage des composés phénoliques totaux	26
2.5.2. Dosage des flavonoïdes	27
2.5.3. Dosage des tannins	28
2.6. Etude <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante des extraits de NS et ND.....	29
2.6.1. Test du Pouvoir réducteur	29
2.6.2. Test de l'activité anti-radicalaire au DPPH	30
2.7. Etude <i>in vivo</i> de l'activité antioxydante des extraits de NS et ND	31
2.7.1. Prélèvement sanguin	31
2.7.3. Mesure de l'activité antioxydante plasmatique	32
2.8. Analyses biochimiques du plasma	32
3. Analyse statistique	35

Résultats et discussion

1. Résultats du test d'humidité	36
2. Résultats d'extraction	36
2. Résultats du dosage des composés phénoliques	36
2.1. Teneurs en polyphénols totaux	37
2.2. Teneurs en flavonoïdes	37
2.3. Teneurs en tannins	37
2.4. Résultats de l'étude <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante	38
2.4.1. Résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur	38
2.4.2. Résultats de l'activité anti-radicalaire au DPPH	39
4. Résultats de l'étude <i>in vivo</i> de l'activité antioxydante	40
5. Résultats des analyses biochimiques des plasmas des souris	41

Conclusion générale	43
----------------------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Glossaire

Introduction

Depuis l'antiquité, les habitants du globe terrestre utilisent les plantes médicinales, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles.

L'étude de la chimie des plantes reste d'actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement du fait que le règne végétal représente une source d'une immense variété de molécules bioactives possédant un très large éventail d'activités biologiques (Ferrari, 2002).

Une grande partie des recherches effectuées ces dernières années sur les plantes médicinales porte sur l'étude des molécules antioxydantes comme les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols. Cela pour échapper aux conséquences du stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies telles que l'artériosclérose, le cancer, les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement (Leverve *et al.*, 2001).

Pour ces raisons, il nous a semblé intéressant d'inscrire notre travail dans ce contexte de recherche, dont l'objectif essentiel consiste à étudier l'activité antioxydante des extraits phénoliques des graines de deux plantes appartenant au genre *Nigella*. L'une est domestique et l'autre sauvage qui sont respectivement : *Nigella sativa* L. et *Nigella damascena* L.

Pour y parvenir, nous avons procédé en premier lieu à une synthèse bibliographique consacrée à l'étude botanique des deux plantes, leurs compositions chimiques, leurs effets thérapeutiques et enfin au stress oxydant et l'activité antioxydante. En deuxième lieu à l'étude expérimentale qui consiste en :

- L'extraction des composés phénolique à partir des graines des deux espèces de nigelle.
- L'analyse quantitative des extraits obtenus, en effectuant le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins.
- Etude *in vitro* ainsi que *in vivo* de l'activité antioxydante des extraits obtenus.

Partie
bibliographique

Chapitre I

Généralités sur la nigelle

1. Historique

La nigelle a une remontée historique très ancienne. Elle faisait partie des condiments observés sur les papyrus, les peintures murales et les sculptures de l’Egypte ancienne. Ce qui indique que *Nigella sativa* L. avait joué un rôle important dans les traditions égyptiennes anciennes (Iserin, 1997 ; Zahoor *et al.*, 2004).

Elle fut mentionnée par Hippocrate et dans la bible (Rahman *et al.*, 1985 ; Iserin, 1997) et au premier siècle après J-C, le médecin grec Dioscoride indiquait que les graines de *Nigella sativa* L. soulagent les maux de tête et de dents, éliminent les sécrétions nasales et les vers intestinaux, et à forte dose favorisent la sécrétion urinaire (Iserin, 1997). Elle était aussi utilisée en Europe comme aromate de boulangerie jusqu’au XVII^{ème} siècle, puis abandonnée petit à petit (Volak et Stodola, 1983).

La nigelle fait partie aussi de la médecine traditionnelle prophétique, le prophète Mohamed satisfaction et salut de Dieu sur lui, avait dit : « Soignez- vous en utilisant la graine noire c’est un remède contre tous les maux à l’exception de la mort ». Pour cette raison, plusieurs savants musulmans s’intéressèrent à cette graine (Meziti, 2009).

De nos jours, les graines de *Nigella sativa* L. sont utilisées comme condiment, elles restent présentes dans de nombreuses cuisines, ou elles agrémentent les pains traditionnels. Elles sont aussi utilisées en cosmétique, dans la fabrication des shampoings, savons, huiles, etc. (Benazzouz, 2005; Al-Saleh *et al.* , 2006).

2. Généralités

Le genre *Nigella* (appelé communément Nigelle) contient approximativement 20 espèces telles que *Nigella orientalis*, *N.oxpetala*, *N.latisecta*..., mais la plus populaire est *Nigella Sativa* L. (Peter, 2004). Cette dernière est très utilisée dans la phytothérapie. D’autres espèces voisines de *N. sativa*, telles que *N. damascena*, *N. hispanica* et *N.arvensis* sont également utilisées dans ce domaine. Du latin *nigellus* « noirâtre », la nigelle offre ses petites graines aromatiques de couleur noire intense (Negre, 1962).

Nigella sativa L. originaire du bassin méditerranéen et de l’Asie occidentale, appelée localement « Sinoudj » connues sous le nom de cumin noire, black seed en anglais, *Habbat el baraka* ou encore *El habbah sauda* dans les pays arabes (Ghedira, 2006). Elle est maintenant cultivée dans plusieurs régions du monde surtout dans le bassin méditerranéen et en Inde. Elle se développe sur les terres semis arides (Antuono et hamaza., 2002 ; Badary *et al.*, 2003), les graines de cette plante sont récoltées à maturité . L’inde est le plus grand pays producteur et exportateur de ces graines au monde (Iserin, 2001 ; Peter, 2004).

Nigella damascena L. originaire du bassin méditerranéen et de l'Europe centrale, est une espèce moins explorée comparant à *Nigella sativa* L. (D'Antuono *et al.*, 2002), mais a quelque importances horticoles et ornementales (Heiss et Oeggl, 2005). Les graines de *N. damascena* L. ont un aromate doux parfumé, et ressemble légèrement à celui de la fraise. Pour cette raison, elles ont été utilisées comme un condiment dans les sucreries et pour garnir les gâteaux et les biscuits (D'Antuono *et al.*, 2002).

L'épithète *damascena* est nommée d'après l'aspect de la fleur et de ses bractées, évoquant l'art du damasquinage, traditionnellement pratiqué à Damas (Syrie), comme son nom l'indique (Beloued, 1998 ; Heiss et Oeggl, 2005).

Les graines de ces deux espèces de nigelle sont utilisées en Orient comme des agents aromatisants pour fabriquer le pain et le fromage (Doepke et Fritsch, 1970 ; Tillequin *et al.*, 1976 ; Lebre'ton, 1986).

3. Noms communs (vernaculaires)

Nigella sativa L. possédant deux autres noms latins (moins utilisés) : *Cuminum nigrum*, *Nigella indica*, et une multitude de noms vernaculaires à travers le monde qui sont récapitulés dans le tableau I.

Plusieurs appellations sont données pour *Nigella damascena* L. telles que : Nouar el miquittfa (en Algérie), Nigelle bleue, Barbiche, etc. (Gérard, 1966).

Tableau I : Noms communs de *Nigella. Sativa* L. (Andaloussi, 2009).

Région	Noms communs
Arabe	Sinouj, Sanouz, Shunez, Habbah sauda, Habbet el beraka, Kamun aswad
Arménienne	Shoushma
Allemande	Zwiebelsame, Schwarzkümmel
Anglaise	Devil in the bush, Love in the mist, Fennel flower, Onion seed
Finlandaise	Neidonkuka
Française	Cheveux de vénus, Nigelle, Poivrette
Hindienne	Kalounji, Munga reala
Italienne	Nigella, Melanzis
Norvégienne	Svartkarve
Russe	Charnushka
Suédoise	Svartkummin
Turquie	Çörekottu siyah

4. Aspect botanique

4.1. Classification

N. sativa L. et *N. damascena* L. appartiennent à la famille des renonculacées (renoncule des champs) et au genre *Nigella*. Cette famille comprend une trentaine de genres et environ 1200 espèces.

La classification spécifique de ces deux espèces d'après Negre (1962), est la suivante :

- Classe : Dicotylédones
- Sous classe : Dialypétales
- Série : Thalamiflores
- Ordre : Ranales
- Famille : Renonculaceae
- Genre : *Nigella*
- Espèces : *Nigella Sativa*; *Nigella damascena*

4.2. Description botanique

4.2.1. Description botanique de *Nigella sativa* L. (NS)

Nigella sativa L. est une plante herbacée, cultivée, annuelle et atteint 8 à 12 pouces de hauteur (Özkanli, 2006). Les feuilles pennatiséquées divisées en lobes étroits, sont lancéolées à linéaire. Les fleurs comportent cinq pétales pétaloïdes blancs ou verdâtres et cinq sépales plus petits, de nombreuses étamines sont insérés sur le réceptacle (Max et Robert., 2003). (figure1)

Les fruits mûrs, constitués de gousses dentelées à follicules soudés s'ouvrant par une fente interne, renferment de nombreuses graines de couleur noire matte (2 à 3,5 mm de long) et de forme ovoïde présentant 3 ou 4 angles (figure 2). La face supérieure est finement granuleuse et réticulée (Ghedira, 2006).

La reproduction est autonome s'accompagne par formation des capsules qui contiennent des graines blanches trigonales. Une fois ces capsules sont matures, elles s'ouvrent et l'exposition des graines à l'air les rend noires (Salem, 2005).

4.2.2. Description botanique de *Nigella damascena* L. (ND)

ND est une plante sauvage, annuelle herbacée qui grandie dans les prairies des zones tempérées en Europe (Tutin *et al.*, 1964).

Elle comporte une tige dressée d'une hauteur d'environ 20 à 50cm. Les feuilles sont pennatiséquées, les segments terminaux sont plus longs que ceux latéraux. Les feuilles inférieures sont lancéolées alors que les supérieures sont sétacées. Les fleurs à sépales ovoïdes

de couleur blanche ou bleue, ont entre 10 et 12,5 mm de longueur, 6 et 8 mm de largeur. Les feuilles sont réunies en involucre immédiatement autour des fleurs ce qui permet de distinguer ND de NS. Les graines sont noires de forme ovoïde (Kökdil *et al.*, 2006).

La figure (01) montre les deux espèces de nigelle : *Nigella sativa* L. qui est une plante cultivée (domestique) et *Nigella damascena* L. qui est une plante sauvage.

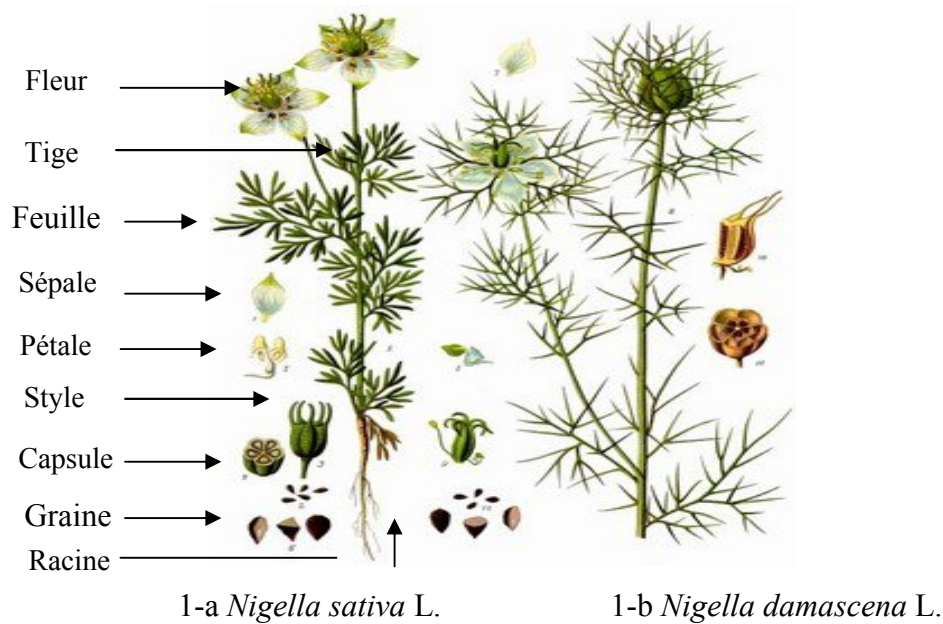


Figure 01 : Appareil végétatif de *Nigella sativa* L. et *Nigella damascena* L. (Özkanli, 2006).

La photographie ci-dessous montre la différence entre les graines de chacune de ces deux espèces.



Figure 02 : Photographie des graines de *N. damascena* L. (à gauche) et *N. sativa* L. (à droite) (Heiss et Oeggli, 2005).

5. Composition chimique des graines de nigelle

La nigelle renferme plus d'une centaine de composés dont certains n'ont pas encore été étudiés ou identifiés (Ghedira et Le-Jeune, 2010).

5.1. Composition chimique des graines de *Nigella sativa* L.

Les graines de NS comportent d'importants éléments minéraux. Le potassium est l'élément le plus abondant, suivi du phosphore et calcium puis du magnésium, sodium, fer, zinc et du cuivre (Cheikh-Rouhou *et al.*, 2007). Ces éléments ont été également identifiés dans cinq variétés de graines par Takruri et Dameh (1998).

Tableau II : Composition chimique de 100 grammes de graines de NS (Takruri et Damah, 1993 ; Nergiz et Ottles, 1993).

Composition	Graine européenne	Graine éthiopienne
Humidité (g)	4	6.6
Protéine (g)	22	13.8
Graisse (g)	41	32.2
Hydrate de carbone (g)	17	–
Fibre (g)	8	16.4
Cendre (g)	4.5	7.5
N (g)	–	2.2
Na (g)	0.5	–
K (g)	0.5	–
Ca (g)	0.2	0.5
P (g)	0.5	0.6
Fe (mg)	10	17
Thiamine (mg)	1.5	0.62
Niacin (mg)	6	9.5
Pyridoxine (mg)	0.7	–
Tocophérol (mg)	34	–

L'évaluation de ces graines a été faite largement sur les composants majeurs qui sont les alcaloïdes, terpène et quelques flavonoïdes (Doepke et Fritsch, 1970 ; Tillequin *et al.*, 1976 ; et Lebreton, 1986). En effet, quatorze composés phénoliques (acides phénoliques) ont été identifiés avec succès par Bourgo et ses collaborateurs (2008) à partir des graines de cette plante : acide gallique, P-acide hydroxybenzoïque, acide chlorogénique, acide vanillique, α -coumarique, acide ferulique, trans-2-acide hydroxycinnamiques, acide trans-cinnamique, picatéchine, catéchine, quercétine, apigénine, mentoflavone, et flavone. Ces composés ont été identifiés d'après leur temps de rétention et les caractéristiques spectrales des pics comparées à ceux des standards voir (Tableau III) ;

Tableau III: Teneurs en acides phénoliques de l'extrait méthanolique de *Nigella sativa* L. (Bourgou *et al.*, 2008).

Composé phénolique	Teneur (mg/100g)
Acide vanillique	89.94 – 143.21
Acide gallique	27.86 - 30.56
Acide trans-2-hydroxycinnamique	1.25 – 2.58
Acide trans-cinnamique	0.98 - 15.47
Acide hydroxybenzoïque	0.19 – 1.73
Acide chlorogénique	0.36 – 1.5
Acide cumerique	0.631
Acide p-coumarique	0.360
Acide ferulique	0.180
Acide cyringique	0.125

Merfort *et al.* (1997) ont également isolé et identifié des structures de trois nouveaux flavonoïdes (flavonols triglycosidiques) à partir d'un extrait méthanolique des graines de NS, après avoir effectué une hydrolyse acide et enzymatique et une étude spectrale : UV, SM, RMN (Figure 03).

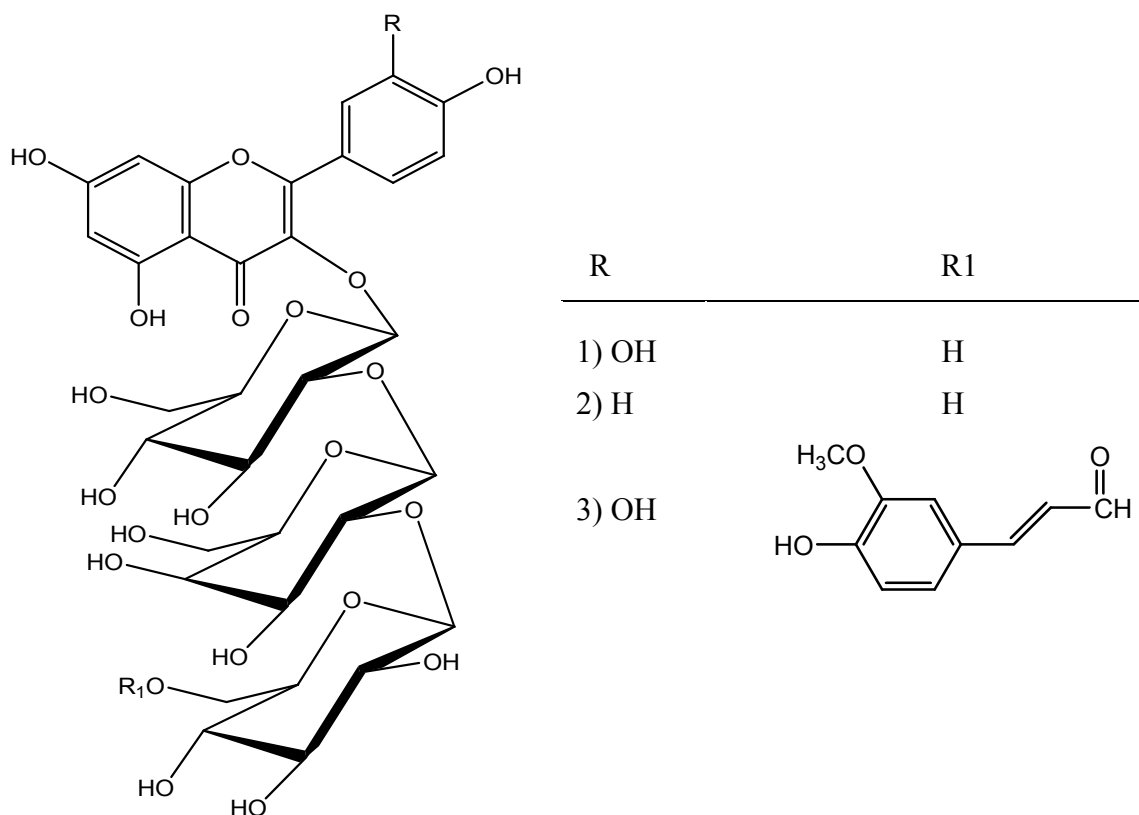


Figure 03 : Structures de trois flavonoïdes triglycosidiques isolés à partir des graines de *Nigella sativa* L. (Merfort *et al.*, 1997).

- 1) Quercétine 3-O- β -glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)-O- β -galactopyranosyl (1 \rightarrow 2)-O- β -glucopyranoside.
- 2) Kaempferol 3-O- β -glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)-O- β -galactopyranosyl (1 \rightarrow 2)-O- β -glucopyranoside.
- 3) Quercétine 3-O-(6-feruloyl- β -glucopyranosyl) (1 \rightarrow 2)-O- β -galactopyranosyl (1 \rightarrow 2)-O- β -gluco-pyranoside.

5.2. Composition chimique des graines de *Nigella damascena* L.

Les graines de ND contiennent des alcaloïdes tels que la damascenine (substance toxique), mélanthine (toxique), nigelline (paralytique); des composés phénoliques (flavonoïdes, tannins); des sesquiterpènes, stérols et saponines (Yoshimitsu *et al.*, 2007; Bilal, 2008).

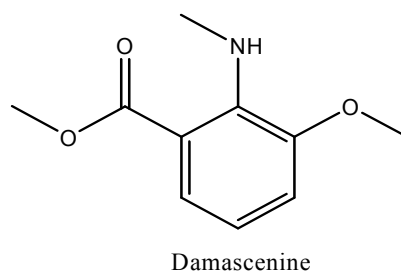


Figure 04 : Structure chimique de la damascenine

Ces graines contiennent aussi des polyols et des acides gras (Fico *et al.*, 2001). L'étude de Dauksas *et al.* (2002) effectuée sur l'extraction de l'huile des graines de *Nigella damascena* L. a montré que l'acide gras principal était l'acide linoléique (43,71 à 50,83%), suivi par l'acide oléique (14,87 à 23,65%), stéarique (15,07 à 23,24%) et palmitique (10,13 à 12,07%).

Tableau IV: Composition chimique des graines de *Nigella damascena* L. (Eberhard *et al.*, 2005).

Composé	Constituants correspondants
Saponosides triterpénique (1,5%)	Mélianithine
Alcaloïdes	Nigellidine, nigellicine et nigellimine
Lipides (30 - 35 %)	Acide linoléique (50 à 60 %), acide oléique (18 à 25 %), acide palmitique (10 à 15 %)
Huiles essentielles (0,4 à 2,5 %)	Paracymene et thymoquinone
Tocophérol	alpha- béta- gamma- et delta-tocophérols
Stérol	β -sistérol, stigmastérol, isofucostérol, campestérol, stigmastanol

Plusieurs composés phénoliques ont été identifiés à partir de *Nigella damascena* L. tels que :

- acide 2,4-di-hydroxyphenylacétique ;
- 3,4-dihydroxy-b-phenethyl alcohol ;
- acide 2,4dihydroxyphenylacetic methyl ester (Agradi *et al.* ,2002) .

Les structures chimiques de ces composés sont présentées dans la figure qui suit (Figure 05).

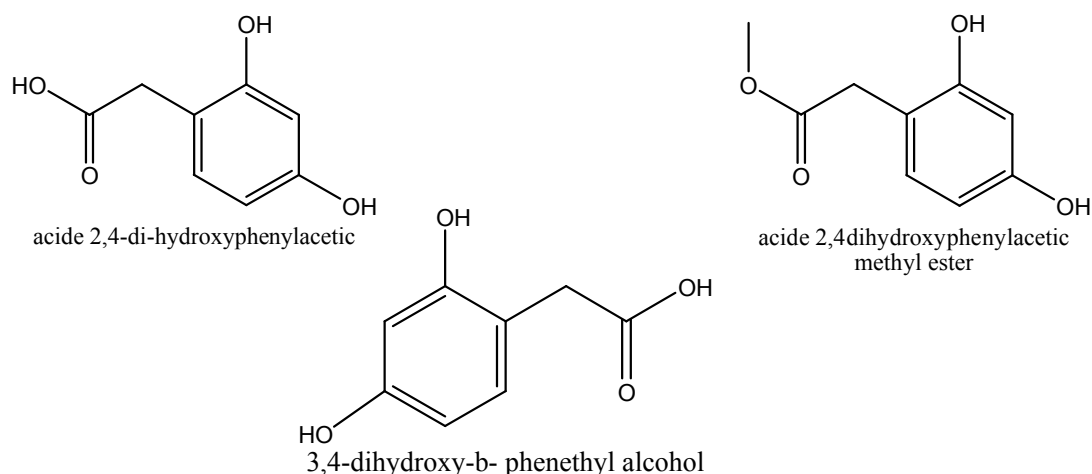


Figure 05 : Structures chimiques de quelques composés phénoliques de *Nigella damascena* L.

6. Effets thérapeutiques des plantes étudiées

6.1. Effets thérapeutiques de *Nigella sativa* L.

La nigelle a occupé une place privilégiée dans les civilisations islamiques grâce au Hadith du prophète Mohamed satisfaction et salut de Dieu sur lui, ce qui a fait la grande popularité de cette plante.

Les graines ont été largement utilisées pour soulager les maux de têtes et de dents, éliminer les sécrétions nasales et les vers intestinaux et à fortes doses favorisant la sécrétion urinaire et la lactation, elles sont aussi utiles dans le cas des difficultés de la respiration et des infections de la peau (Mahmoudi, 1990 ; Iserin, 1997).

Les graines sont aussi employées avec la crème du lait pour guérir le hoquet obstiné. L'inhalation de la vapeur des graines grillées, soulage le rhume et la migraine. La décoction des graines dans une huile sans goût est très utilisée pour les maladies de la peau. Les graines macérées dans l'eau, enlève les renflements des mains et des pieds, la pâte obtenue à partir des graines broyées est utilisée contre les piqûres de scorpion (Beloued, 2001 ; Gilani ., 2004).

Les graines broyées mélangées avec du miel d'abeille sont employées dans les cas de perte d'appétit, vomissement, fièvre et comme galactagogue, l'infusion préparée avec une cuillère à café des graines par tasse d'eau et à prendre deux fois par jour est utilisée en cas de bronchite ainsi que leur décoction dans du vinaigre, calme en bain de bouche les maux de dents. Les graines écrasées dans un linge et aspirées, soulagent les maux de tête (Mahmoudi, 1990 ; Beloued, 2001).

Ces différentes utilisations traditionnelles ont inspiré les chercheurs afin de confirmer les effets pharmacologiques de cette plante (Ghedira et Le-Jeune, 2010). En effet Plusieurs propriétés pharmaceutiques ont été démontrées par des expérimentations animales et par des testes cliniques parmi lesquels nous citons les effets : anti-tumoral, anti-inflammatoire, antiviral, antihistaminique, immunomodulateur et hépatoprotecteur (Arora, 2008).

En plus des activités citées en dessus, d'autres sont élucidées telles que :

➤ **Action antidiabétique**

Les effets de NS sur certaines complications du diabète induit chez les lapins ont fait l'objet de nombreux travaux. L'effet hypoglycémiant observé se manifeste selon un mécanisme, non encore identifié, n'impliquant pas l'insuline (El-Dakhakhny *et al.*, 2002 ; Meddah *et al.*, 2009).

➤ **Effet sur l'homéostasie**

La prise d'huile fixe de NS chez le rat (à raison de 1 ml/kg par jour pendant 12 semaines) a montrée une diminution des taux sanguins de cholestérol, de triglycérides et de glucose (Zaoui *et al.*, 2002).

➤ **Action antiulcéreuse**

L'extrait aqueux des graines réduit de 36% l'indice d'ulcère induit par l'acide acétylsalicylique (aspirine) et diminue l'activité peptique et la production d'acide chez le rat (Ghedira, 2006). Il a été démontré que l'administration de L'huile fixe à raison de 0.88g/kg/jours pendant deux semaines augmente la mucine gastrique et le contenu en glutathion et avec diminution du taux de l'histamine, sans affecter l'acidité libre ni le suc gastrique (El-Dakhakhny *et al.*, 2000).

➤ **Action antihépatotoxique**

L'étude effectuée par El-Dakhakhny et ses collaborateurs (2000) a montré que le prétraitement des rats par l'huile fixe de *Nigella sativa* L. durant quatre semaines assure la protection contre l'atteinte hépatique induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) et la D-galactosamine.

➤ **Action antimicrobienne**

Les différents extraits des graines de *Nigella sativa* L. présentent un large spectre d'inhibition vis-à-vis de nombreuses souches bactériennes. L'huile fixe présente aussi une excellente activité antifongique, notamment à l'égard d'*Aspergillus niger*. Par ailleurs, la thymoquinone exerce une activité inhibitrice vis-à-vis de huit espèces de dermatophytes (Ghedira et Le-Jeune, 2010). L'extrait méthanolique, la di-thymoquinone ainsi que l'huile essentielle même diluée à 1%, exercent une importante activité antimicrobienne sur des germes Gram positif et Gram négatif (Aljabre *et al.*, 2005).

➤ Action antiparasitaire

Les travaux de Mahmoud *et ses collaborateurs* (2002) ont démontré que l'administration de 2,5 à 5 ml/kg de l'huile fixe de *Nigella sativa* L. par voie orale pendant deux semaines, provoque la réduction du nombre de *Schistosoma mansoni* dans le foie et diminue le nombre d'oeufs déposés dans le foie et les intestins.

➤ Toxicité

Skalli (2007) a rapporté que deux plantes qui se ressemblent (même genre) peuvent être l'une toxique et l'autre pas, c'est le cas de NS (non toxique) et de ND (toxique). Les graines de ND sont constituées d'un alcaloïde la damascénine et d'une huile volatile composée de mélanthine et de nigelline qui sont toxiques à doses élevées, donc cette épice doit être utilisée par modération (Bilal, 2008).

Les plantes médicinales achetées chez l'herboriste peuvent être contaminées par des éléments toxiques comme les pesticides et les métaux lourds.

Une faible toxicité de l'huile de NS a été mise en évidence par de fortes valeurs de DL50 qui suggère une importante marge thérapeutique pour les doses d'huile fixe de NS (Zaoui *et al.*, 2002).

6.2. Effets thérapeutiques de *Nigella damascena* L.

Les graines de cette plante ont un effet carminatif, diurétique et vermifuge, ces effets sont attribués aux huiles essentielles et aux saponines, utilisées également comme antidotes pour traiter les morsures de serpents et les piqûres de scorpions (Heiss et Oeggel, 2005)

L'extrait méthanolique des graines de *Nigella Damascena* L., possède une activité oestrogénique due à la présence des deux composés phénoliques : 3,4-dihydroxy- β -phenethyl alcool et 2,4- dihydroxyphenylacetic qui se fixent aux récepteurs d'œstrogène et exercent le même effet que l'œstrogène dans la régulation du cycle menstruel de la femme (Agradí *et al.*, 2002). Cet extrait présente aussi une activité antioxydante due à la présence de la thymoquinone qui piège les radicaux libres. L'huile fixe exerce également un effet analgésique (Teuscher *et al.*, 2005).

Chapitre II

Stress oxydatif et activité antioxydante

1. Stress oxydatif et radicaux libres

1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif a été défini par Sies (1991) comme étant un déséquilibre entre les systèmes prooxydants et antioxydants en faveur des premiers, en impliquant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces derniers englobent les radicaux oxygénés et les dérivés non radicalaires de l'O₂ (H₂O₂, HOCl, O₃).

La formation incontrôlée des ERO comme l'anion superoxyde (O₂^{•-}), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou le radical hydroxyle (OH[•]) aura des conséquences souvent lourdes pour l'organisme. Mais la formation de ces ERO n'est pas toujours synonyme de toxicité. En effet, certaines sont des intermédiaires de processus physiologiques normaux. Ce n'est plus que lorsque les systèmes de défense sont dépassés et ne suffisent plus à neutraliser la surproduction de ces espèces que la toxicité apparaît (Campbell *et al.*, 2004).

1.1.1. Origine du stress oxydatif

La rupture d'équilibre entre le système pro-oxydant et antioxydant peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs antioxydants apportés par la nutrition, comme les vitamines ou les oligo-éléments, présents en quantité limitée dans l'alimentation. La mauvaise adaptation peut résulter d'anomalies génétiques responsables d'un mauvais codage d'une protéine soit enzymatiquement antioxydante, soit synthétisant un antioxydant (comme la gamma glutamyl synthétase produisant le glutathion), soit régénérant un antioxydant. Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et affecte un tissu ou un type cellulaire bien précis et non pas tout l'organisme (Favier, 2003).

1.1.2. Conséquences du stress oxydatif

La production excessive de radicaux libres (RL) provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Favier, 2003).

Le stress oxydatif est la principale cause de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Ainsi, le stress oxydatif est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles telles le diabète, l'Alzheimer, le rhumatisme et les maladies cardiovasculaires, etc. (Leverve *et al.*, 2001).

1.2. Radicaux libres

1.2.1. Définition

Un radical libre (RL) est une espèce chimique, molécule ou atome, capable d'avoir, le plus souvent un ou plusieurs électrons célibataires (électrons non appariés sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable (Dusser, 1997 ; Koppenol, 2000 ; Poortmans et Boisseau, 2003).

En biologie, les radicaux libres sont formés le plus souvent à partir de l'oxygène, d'où leur appellation : espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les ERO regroupent l'ensemble des dérivés oxygénés radicalaires comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) mais également d'autres composés non radicalaires dont le peroxyde d'hydrogène (Wu et Cederbaum, 2003).

1.2.2. Origine des radicaux libres

L'origine des RL peut être endogène ou exogène. Ils s'obtiennent surtout par décomposition thermique (activation thermique) ou photochimique (activation photochimique) de molécules comportant une ou plusieurs liaisons covalentes plus faibles. L'exemple classique est celui de la décomposition du peroxyde de benzoyle qui forme deux radicaux benzoyloxy fortement stabilisés lorsqu'on chauffe cette substance aux environs de 80°C (Mercier et Godard, 2001).

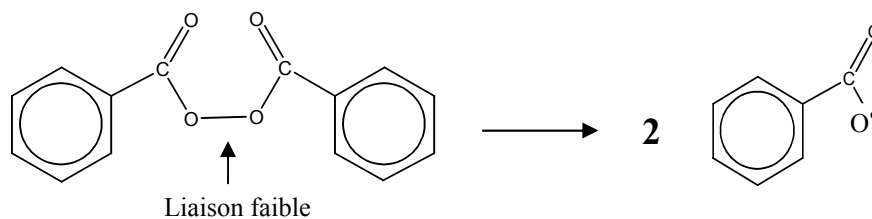


Figure 06: Décomposition du peroxyde de benzoyle (Mercier et Godard, 2001)

➤ Source endogène

Les Sources endogènes des RL se situent au niveau des chaînes mitochondriales des cellules aérobies de l'organisme (NADH déshydrogénase) (Figure 07). Les RL peuvent être également formés au niveau du réticulum endoplasmique, du cytoplasme et de la membrane cytoplasmique. Dans le muscle, les sites de production sont aussi les lysosomes, les peroxysomes, etc. (Thiebault et Sprumont, 1998).

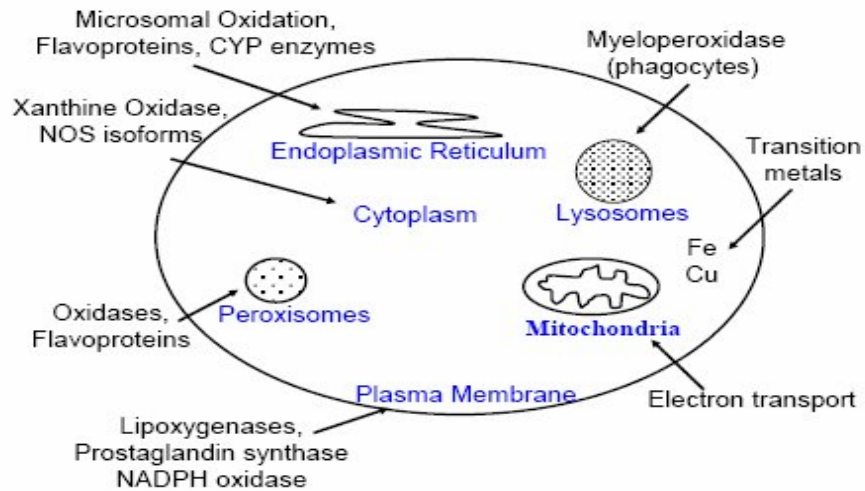


Figure 07 : Sources endogènes des radicaux libres (Lausanne, 2010).

➤ Sources exogènes

Selon Halliwell (1989), les sources exogènes de radicaux libres sont multiples : l’oxygène, les radiations (ultraviolet, rayons gamma, etc.), certains toxiques comme la bléomycine et le benzopyrène. Les polluants atmosphériques, les solvants organiques, les anesthésiques et les pesticides peuvent être aussi une source directe ou indirecte d’espèces réactives d’oxygène essentiellement par le biais de leurs résidus métaboliques (Figure 08).

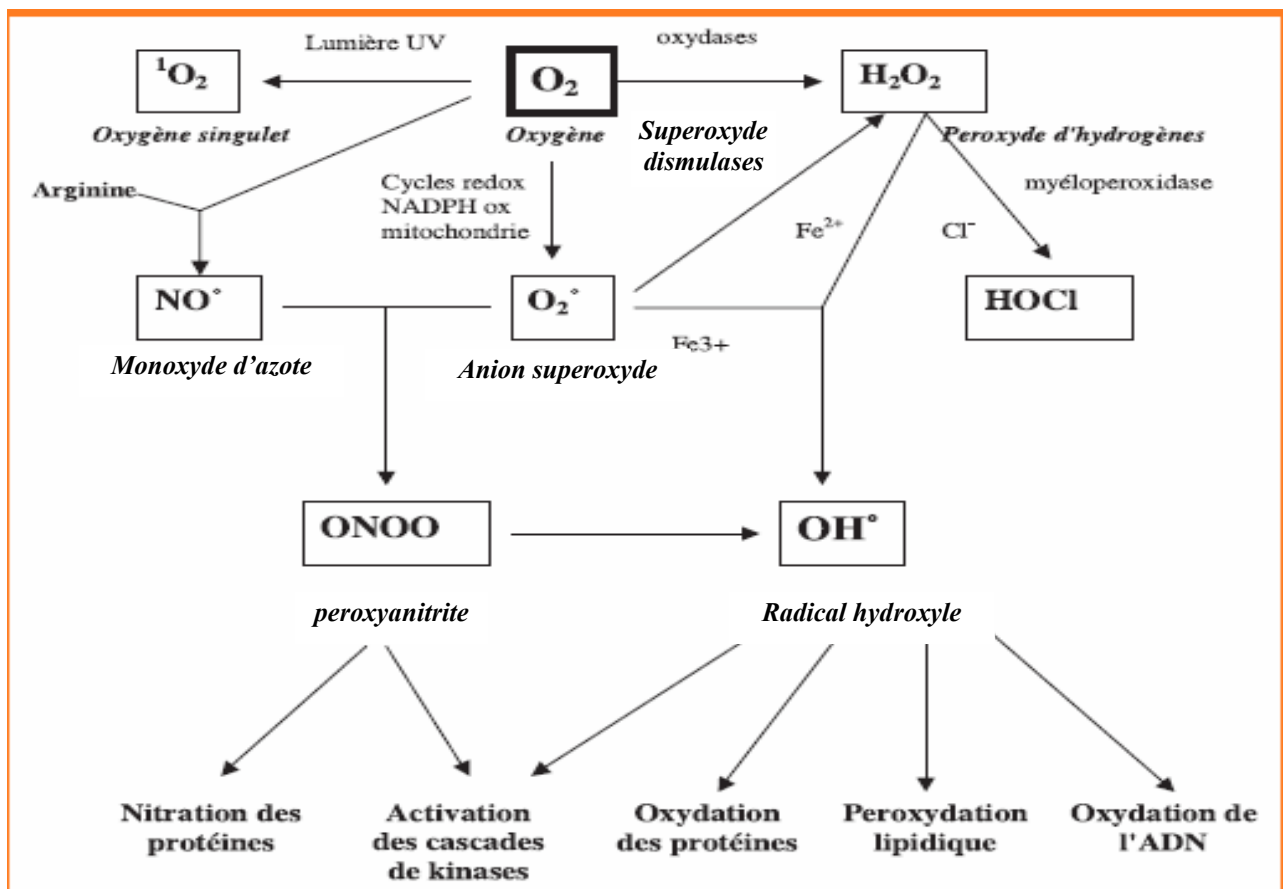


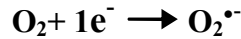
Figure 08 : Espèces réactives d’oxygène et leurs cibles (Alain Favier, 2003).

Les principaux RL impliqués dans le stress oxydatif sont :

➤ **Radical superoxyde $O_2^{\bullet -}$**

Le radical superoxyde est produit à partir de l'oxygène moléculaire, principalement par les cellules phagocytaires (neutrophiles, monocytes, macrophages et éosinophiles) et il participe à l'inactivation des virus et bactéries (Nohl, 1994).

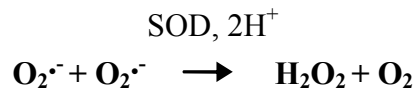
En effet, environ 2 % de l'oxygène subit une réduction mono-électronique (addition d'un seul électron) conduisant à la formation de ce radical au niveau de l'ubiquinone (ou coenzyme Q) (Cadenas et Davies, 2000).



➤ **Peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée H_2O_2**

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est une espèce réactive d'oxygène, non radicalaire, et plus stable que les radicaux superoxydes, c'est pourquoi il diffuse très facilement à travers les membranes cellulaires. En plus, c'est un oxydant capable d'accepter deux électrons supplémentaires, ce qui le rend potentiellement toxique pour la cellule (Halliwell, 1996).

Le peroxyde d'hydrogène est formé par dismutation suite à l'action de l'enzyme de superoxyde dismutase (SOD) suivant la réaction ci-après (Klein, 2003).



Par ailleurs, la membrane mitochondriale externe renferme une monoamine oxydase capable de catalyser la désamination oxydative de certaines amines, avec production simultanée de H_2O_2 (Gardès-Albert et al. 2003).



➤ **Le radical hydroxyle $\bullet OH$**

Il peut être produit à partir de l'eau par les radiations ionisantes dans l'organisme vivant, mais il est surtout formé par la réaction de Fenton à partir de H_2O_2 (Mc-Cord, 1993). L'ion ferreux réagit avec le peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



Le radical hydroxyle formé est très oxydant, c'est le radical le plus dangereux pour l'organisme (Goudable et Favier, 1997). Il peut initier une peroxydation lipidique qui pourra continuer en chaîne (Gutteridge, 1995). La formation et l'élimination de ce radical est illustrées dans la figures 09.

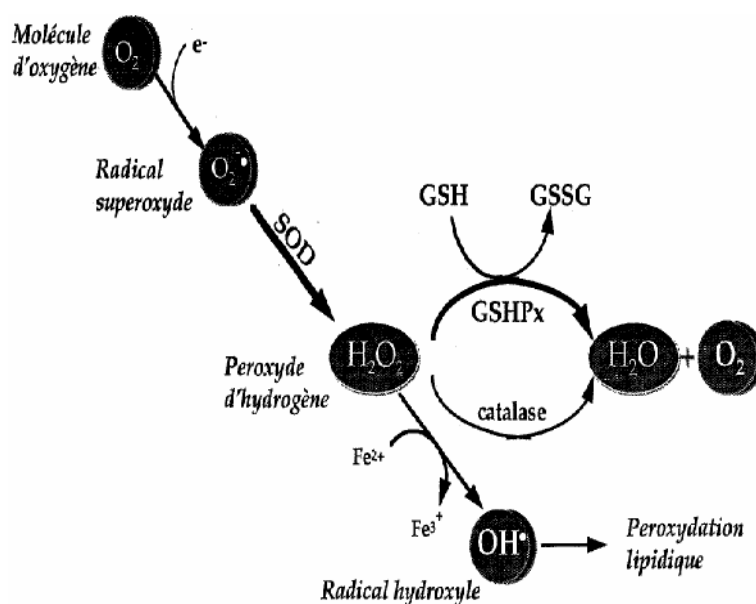


Figure 09 : Principales étapes de production des radicaux libres oxygénés (Goudable et Favier , 1997).

Les principales espèces réactives d'oxygène produites dans l'organisme sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau V : Principales espèces réactives d'oxygène (Lausanne, 2010).

Radicalaire		Non radicalaire	
Hydroxyle	$\bullet\text{OH}$	Peroxynitrite	ONOO^-
Alcoxyle	$\text{L(R)O}\bullet$	Hypochlorite	OCl^-
Hydroperoxyde	$\text{HOO}\bullet$	Hydroperoxide	L(R)OOH
Peroxyde	$\text{L(R)OO}\bullet$	Oxygène singulet	$^1\text{O}_2$
Oxyde nitrique	$\text{NO}\bullet$	Peroxyde Hydrogène	H_2O_2
Superoxyde	$\text{O}_2\bullet^-$		

1.2.4. Rôle fonctionnel des radicaux libres

Les radicaux libres dérivés de l'oxygène sont directement impliqués dans les processus de phagocytose. S'ils sont mis en contact avec une particule étrangère à l'organisme, les phagocytes réagissent en activant la NADPH-oxydase qui produit une quantité importante d' $\text{O}_2\bullet^-$. Ce mécanisme ne permet cependant pas de détruire toutes les bactéries. Il ne neutralise pas le staphylocoque doré par exemple, et certaines affections seraient même aggravées par l'excès de production d' $\text{O}_2\bullet^-$ par les phagocytes, l'arthrite rhumatoïde par exemple (Thiebault et Sprumont, 1998).

En plus, l'oxyde nitrique $\text{NO}\bullet$ intervient dans la régulation du muscle lisse par son action sur la guanylate cyclase qui active la transformation de guanosine mono en guanosine triphosphate cyclique. Il interviendrait également dans le métabolisme de l'acétylcholine (Ganong, 1977). Les RL participent à la synthèse des prostaglandines et à l'oxydation des xénobiotiques (Thiebault et Sprumont, 1998).

1.2.5. Toxicité des radicaux libres

En cas de production excessive, les RL sont susceptibles d'engendrer des effets néfastes. Ils sont responsables du phénomène de stress oxydatif produit par l'inflammation en général et qui provoque la mise en action de mécanismes de défense, à savoir la libération de substances antioxydantes (Thiebault et Sprumont, 1998).

2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante est l'habilité d'un composé (dit antioxydant) 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 RL d'atteindre leurs cibles biologiques, d'où leur fonction de protecteur chimique (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

2.1. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est une molécule ou enzyme capable, en petite quantité, de prévenir ou retarder l'oxydation d'un substrat (Halliwell et Gutteridge, 1988).

D'après (Halliwell, 1996), les mécanismes d'action d'un antioxydant peuvent comprendre :

- Le piégeage direct des RL.
- L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production de RL.
- La stimulation des enzymes antioxydants.

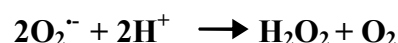
2.2. Systèmes de défense antioxydante

Pour parer aux effets négatifs des RL, la cellule déploie un système de défense incluant des molécules de petits poids moléculaires (glutathion, metallothionine et thioredoxines) et un système enzymatique efficient (Timofeyev, 2005).

2.2.1. Systèmes enzymatiques

Plusieurs enzymes ont un rôle essentiel dans la détoxification des espèces réactives de l'oxygène :

➤ **Superoxyde dismutase (SOD)** : catalyse la conversion de deux anions superoxydes et deux protons en peroxyde d'hydrogène (Fridovich, 1995). Trois isoformes de cette enzyme sont décrites en fonction de ses cofacteurs métalliques et de ces localisations : SOD 1 (cofacteurs cuivre/zinc et localisation cytosolique et nucléaire), SOD 2 (cofacteur manganèse et localisation mitochondriale) et SOD 3 (facteurs cuivre/zinc et localisation extracellulaire) (Ichal *et al.*, 2011).



➤ **Catalase** : transforme le peroxyde d'hydrogène en oxygène et eau, diminuant ainsi sa demi-vie et atténuant de ce fait la génération de radicaux libres hydroxyles (Ichal *et al.*, 2011). Elle est localisée essentiellement dans les peroxysomes et liée au NADPH qui la protège et améliore son activité (Ichal *et al.*, 2011).



➤ **Glutathion peroxydase** : catalyse la réduction de peroxyde d'hydrogène en oxydant le glutathion (GSH) (Levrant *et al.*, 2003). Elle peut aussi réagir avec d'autres substrats comme les lipides expliquant son rôle protecteur vis-à-vis de la peroxydation lipidique. Son site actif contient du sélénium et elle a besoin de glutathion réduit pour fonctionner. Elle se trouve essentiellement dans le cytosol et les mitochondries et c'est l'une des défenses antioxydantes les plus importantes de l'organisme (Ichal *et al.*, 2011).



➤ **Système thiorédoxine** : Les thiorédoxines (TRx) sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH). Elle est responsable du maintien des protéines à l'état réduit et régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR) qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif et elle intervient également dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Haleng *et al.*, 2007).

➤ **Hème oxygénase (HO)**

Le système oxygénase permet la conversion de l'hème en monoxyde de carbone, en biliverdine et en fer (Koolman et Rohm, 1999 ; Ryter et Tyrell, 2000). L'effet protecteur de l'HO contre le stress oxydant est indirect, puisqu'il est relié au fait que :

- La biliverdine se transforme en bilirubine à activité antioxydante (Ryter et Tyrell, 2000).
- Le fer produit par l'activité de l'HO stimule la synthèse de la ferritine, qui est également impliquée dans la réponse antioxydante (Milane, 2004).

2.2.2. Systèmes non enzymatiques

Des antioxydants non enzymatiques agissant comme réducteurs ou capteurs de radicaux vont renforcer l'action des enzymes décrites précédemment.

1) **Glutathion**

Est un tripeptide composé de cystéine, glutamine et glycine. C'est la plus importante des défenses antioxydantes en quantité et probablement en qualité (Ichal *et al.*, 2011). Il fait partie des réducteurs à fonction thiol libre et présent majoritairement à l'état réduit (GSH) dans les cellules. la forme réduite de glutathion agit comme donneur d'électrons permettant d'éliminer les espèces réactives d'oxygène, mais aussi comme substrat des glutathion peroxydases pour la réduction des peroxydes (Campbell, 2004).

2) Vitamine E

Elle agit *in vivo* et *in vitro* en neutralisant les radicaux libres, devenant elle-même un radical non toxique. La réduction de la vitamine E oxydée est assurée par la vitamine C. Les concentrations de ces deux vitamines sont donc nécessairement liées pour la protection contre la peroxydation lipidique (Goudable et Favier, 1997).

3) Vitamine C (acide ascorbique)

Elle agit en régénérant la vitamine E *in vivo*, elle est maintenue sous forme réduite par l'action de la déshydroascorbate réductase qui utilise le glutathion comme cofacteur (Berliner et Heineche, 1996).

4) β -carotène

Le β -carotène est apporté par l'alimentation, il est doué de plusieurs capacités : il est précurseur de la vitamine A, capte l'oxygène singulet sous faible pression, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Le β -carotène protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante : il s'oppose à la cyto- et géno-toxicité de nombreux agents (Allard *et al.*, 1994).

5) Coenzyme Q₁₀

Le coenzyme Q₁₀, appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique. Cette chaîne latérale confère à la molécule un caractère lipophile qui lui permet de s'insérer dans les membranes et les lipoprotéines. Il joue un rôle essentiel dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons et est un puissant inhibiteur de peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E (Goudable et Favier, 1997).

6) Bilirubine

La bilirubine est le produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales.

La bilirubine est capable de piéger le ROO• et l'oxygène singulet. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras qui lui sont liés des attaques radicalaires (Haleng *et al.*, 2007).

7) Acide urique

Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux (OH•, ROO•, NOO•...). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C). Les propriétés antioxydantes de l'urate *in vivo* peuvent être appréciées indirectement par le fait qu'un produit de réaction de l'urate avec l'allantoïne est présent à des taux élevés lors d'un stress oxydant (Haleng *et al.*, 2007).

8) Oligoéléments

Les oligoéléments impliqués dans la défense contre les radicaux libres tels que : le sélénium, le cuivre et le zinc, ne sont pas des antioxydants en tant que tels, car ils ne peuvent pas piéger les RL, mais ils jouent un rôle de cofacteurs des enzymes qui interviennent dans l'inhibition des radicaux libres (Haleng *et al.*, 2007).

9) Polyphénols

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. Ce sont d'excellents piégeurs de RL et de très bons chélateurs de métaux de transition comme le fer et le cuivre (Haleng *et al.*, 2007) (Figure 10).

L'activité antioxydante de ces composés dépendra de la structure (Figure 11) et de la biodisponibilité des polyphénols, de l'interaction avec les récepteurs de la cellule et des activités enzymatiques (Tapiero, 2006).

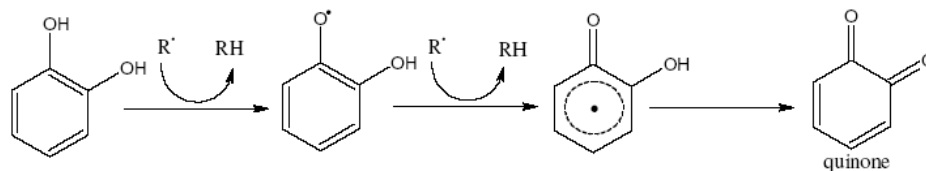


Figure 10 : Piégeage des ERO (R') par les flavonoïdes (Van-Acker, 1996).

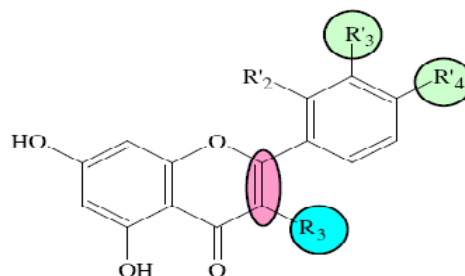


Figure 11 : Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes (Van-Acker, 1996).

Comme cette présente étude est basée sur l'activité antioxydante des composés phénoliques des graines de nigelle, nous donnons plus de détails sur cette classe d'antioxydants.

➤ Composés phénoliques

Vaste groupe de composés apparentés qui se trouvent souvent dans les végétaux ; ils sont généralement colorés de nuances de brun, de rouge et de violet ; ils possèdent des propriétés antioxydantes. Les composés phénoliques sont souvent liés et forment des chaînes polyphénoliques, comme les flavonoïdes des fruits et le resvératrol des raisins (Gene et Spiller, 2007).

1) Rôle des composés phénoliques

Selon Macheix et ses collaborateurs (2005), le rôle des composés phénoliques est reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans leur utilisation par l'homme. Ils peuvent en effet intervenir :

- Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interaction avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...);
- Dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relation avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux;
- Dans les critères de la qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...);
- Dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruit, des boissons fermentées...);
- Dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes.

2) Classification des composés phénoliques

Il existe différentes classes de composés phénoliques (Figure 12), notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols. Les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tannins.

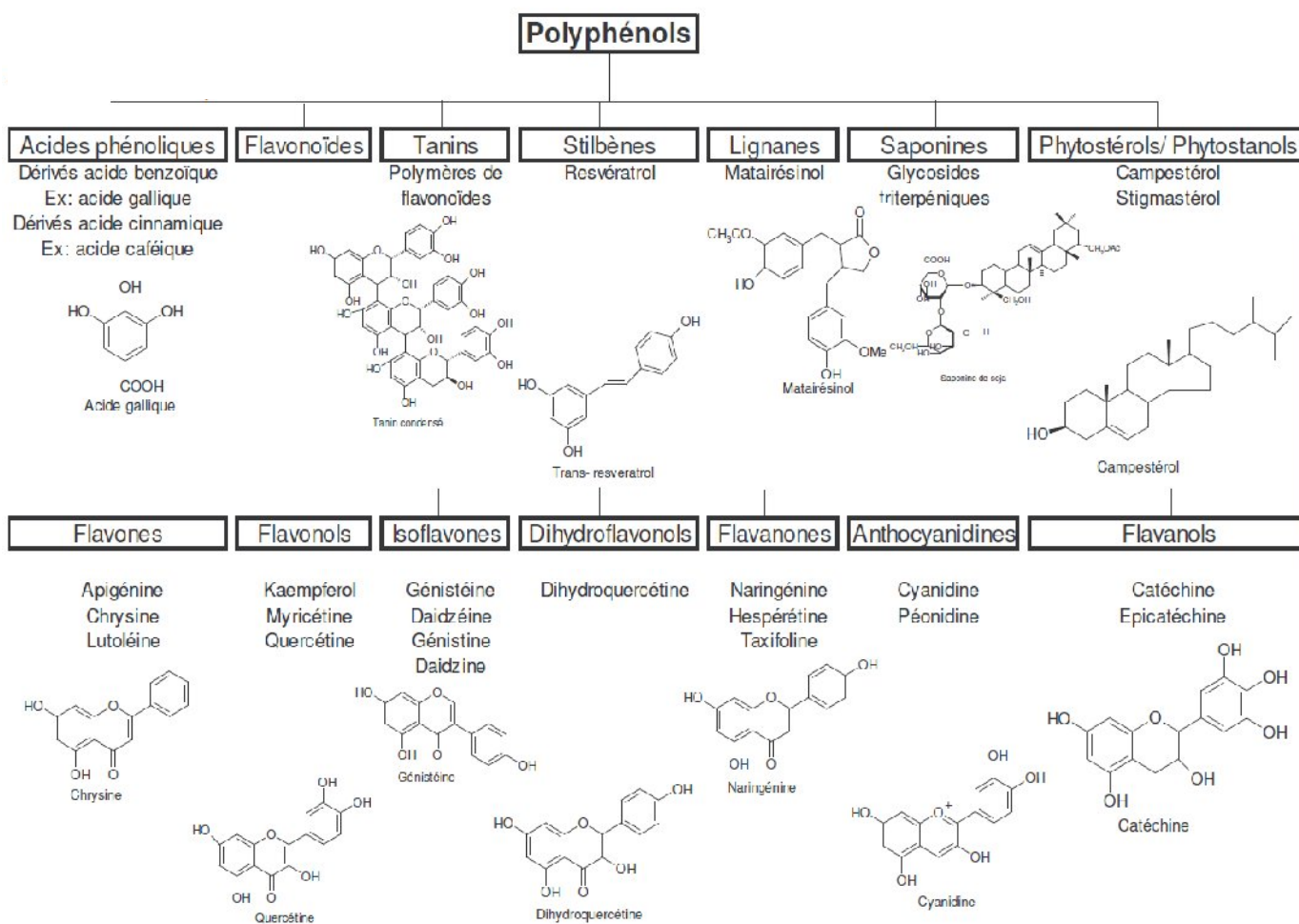


Figure 12 : Différentes classes des composés phénoliques (Gervaise, 2004).

Les acides phénoliques sont largement répandus chez les plantes. Ils dérivent principalement de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique (Figure 13).

Les acides hydroxycinnamiques sont les acides phénoliques les plus largement distribués parmi les plantes. Le principal représentant de cette famille est l'acide caféique qui, par estérification avec l'acide quinique, est transformé en acide chlorogénique (Tapiero, 2006).

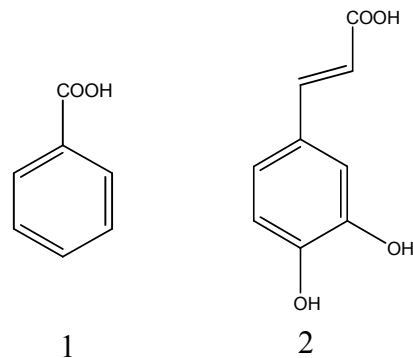


Figure 13 : Structure de l'acide benzoïque (1) et caféique (2) (Krief, 2003).

➤ Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné, cycle C (Bruneton, 1993 ; Elicoh-Middleton, 2000) (Figure 14). Ces composés sont formés suite à deux voies complémentaires, voie acétate malonate et voie shikimate (Hollman *et al.*, 1999 ; Elicoh-Middleton, 2000).

Les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont les suivantes : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isoflavanones, chalcones, aurones et anthocyanes (Harborne et Williama, 2000 ; Kuresh *et al.*, 2002).

Les composés de chaque sous classe se distingue par le nombre, la position et la nature des substituants sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle intermédiaire (Julies et Christin, 2002).

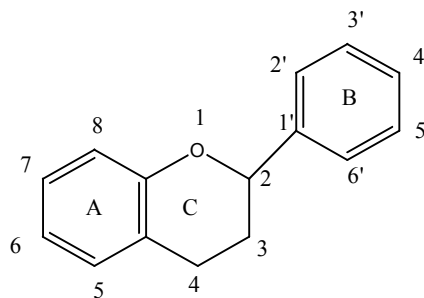


Figure 14 : Structure de base des flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008).

➤ Tannins

Les tannins sont des polyphénols qui ont un poids moléculaire élevé et sont composés d'un groupe très divers d'oligomères et polymères (Hoffmann *et al.*, 2003) (Figure 15).

Les tannins ont des structures variées, ayant en commun la propriété de tanner le cuir de fait de leur pouvoir de se combiner aux protéines. Très répandus dans le règne végétal et ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulière dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelquefois combinés aux protéines et aux alcaloïdes (Roux et Catier, 2007).

Selon leurs structures et la voie de leurs synthèses, les tannins sont regroupés en tannins condensés et hydrolysables (Jarrige *et al.*, 1995) :

- Les tannins condensés : sont des polymères flavonoïques, ils sont produits de métabolisme du phénylpropanoïdes (Heldt *et al.*, 2005) et se produisent dans les fougères et les gymnospermes et sont répandus parmi les angiospermes, particulièrement dans les arbres et les arbustes (Hoffmann *et al.*, 2003).

Ces tannins ont un poids moléculaire élevé (de 1000 à 30 000) et une forte affinité pour les protéines (Jarrige *et al.*, 1995).

Les tannins condensés sont classés en fonction de leur type de monomère –flavone 3-ol ou flavone 3,2-diol- en catéchines et en leucoanthocyanidines (Horvath, 1981)

- Tannins hydrosolubles (hydrolysables) : ce sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) ou d'un polyol et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol (acide gallique souvent) (Roux et Catier, 2007). Ils sont limités dans les plantes dicotylédones et sont solubles dans l'eau et l'alcool (Heldt *et al.*, 2011).

Les tannins hydrolysables sont classés selon leurs produits d'hydrolyse en gallotanins (acide gallique et glucose) et ellagitanins (acide ellagique et glucose) (Mc-Leod, 1974).

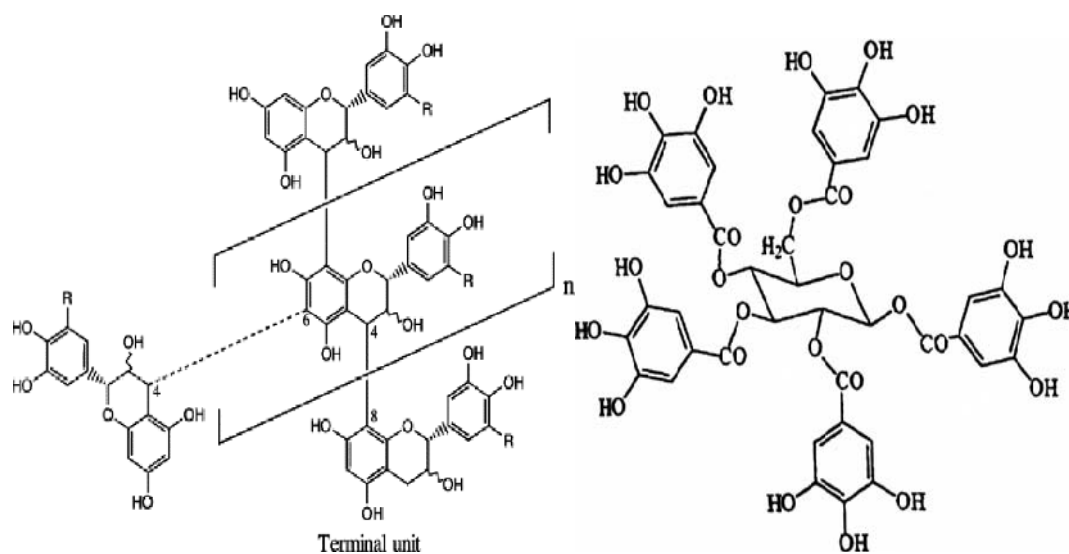


Figure 15 : Structures chimiques des tannins (condensés à gauche et hydrolysable à droite) (Bennick, 2002).

Partie
pratique

Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est les graines de deux variétés de nigelle : *Nigella sativa* L. (NS) et *Nigella damascena* L. (ND).

- Les graines de NS sont achetées chez un herboriste à Bejaia en septembre 2011, leur origine est l'Inde.

- Les graines de ND sont achetées à Rennes d'origine Française.

Une fois réceptionnées, les graines sont nettoyées triées et débarrassées des débris végétaux, puis conservées hermétiquement dans un récipient et à l'abri de la lumière.

1.2. Matériel animal

L'étude in vivo a été réalisée sur 15 souris *Swiss albinos* (Figure 16) dont le poids varie entre 34 à 52g, procurées aux prés de l'Institut Pasteur d' Alger. Les animaux sont hébergés dans des cages de polypropylène munies d'un porte étiquette où est mentionné le nom du lot (Figure17). Pendant la période d'adaptation (15jours) et d'expérimentation (21 jours), ces souris ont accès libre à l'eau et à l'aliment standard fourni par l'Office National des Aliments de Bétails (ONAB) de Bejaia.



Figure 16 : Souris *Swiss albinos*



Figure 17 : Loge des souris

2. Méthodes

2.1. Test d'humidité

Après avoir nettoyé les graines, le test d'humidité a été effectué par séchage de 100 g de graines dans une étuve pendant 4 heures à 103°C.

Ce test a été réalisé d'une part pour déterminer la teneur en eau présente dans ces graines et d'une autre part de suivre au mieux l'étape de séchage des graines. Le pourcentage d'humidité (H%) est calculé comme suit :

$$H\% = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100$$

m_0 est la masse des graines avant séchage

m_1 est la masse des graines après séchage.

2.2. Séchage

Les graines sont placées dans une étuve à 50°C pour subir l'opération de séchage. Les masses sont vérifiées régulièrement et le séchage est arrêté une fois que les poids sont stabilisés.

2.3. Broyage et tamisage

Les échantillons séchés sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique, les poudres de diamètre inférieur à 500µm sont récupérées après tamisage, puis mises dans des bocaux hermétiques, conservées à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Le broyage des graines permet d'augmenter la surface de contact solvant-échantillon, une meilleure infiltration du solvant au sein du matériel végétal ce qui a pour conséquence une augmentation du rendement d'extraction.

2.4. Procédure d'extraction des composés phénoliques

L'objectif de l'extraction est de libérer les polyphénols présents dans la poudre par diffusion. L'extraction solide-liquide est réalisée par macération des poudres dans du méthanol (80%) avec un rapport de 1/10 (p/v). Le mélange est mis sous agitation pendant trois jours à température ambiante. La récupération de l'extrait hydroalcoolique est faite par filtration sous vide en utilisant un verre fritté (diamètre de 4µm). Les filtrats obtenus (figure 18) subissent une concentration sous vide à l'aide d'un rotavapeur (figure 19) puis lyophilisés afin d'obtenir des extraits secs. La figure 20 illustre le protocole d'extraction à partir des poudres de NS et ND.

Le rendement d'extraction (RE) a été calculé selon la formule suivante :

$$RE(\%) = \frac{m_1 - m_2}{E} \times 100$$

m_1 : la masse des graines avant séchage

m_2 : la masse des graines après séchage

E : la masse de l'échantillon en g.



Figure 18 : Filtrat de nigelle



Figure 19 : Evaporation des extraits par rotavapor (R-210 BUCHI)

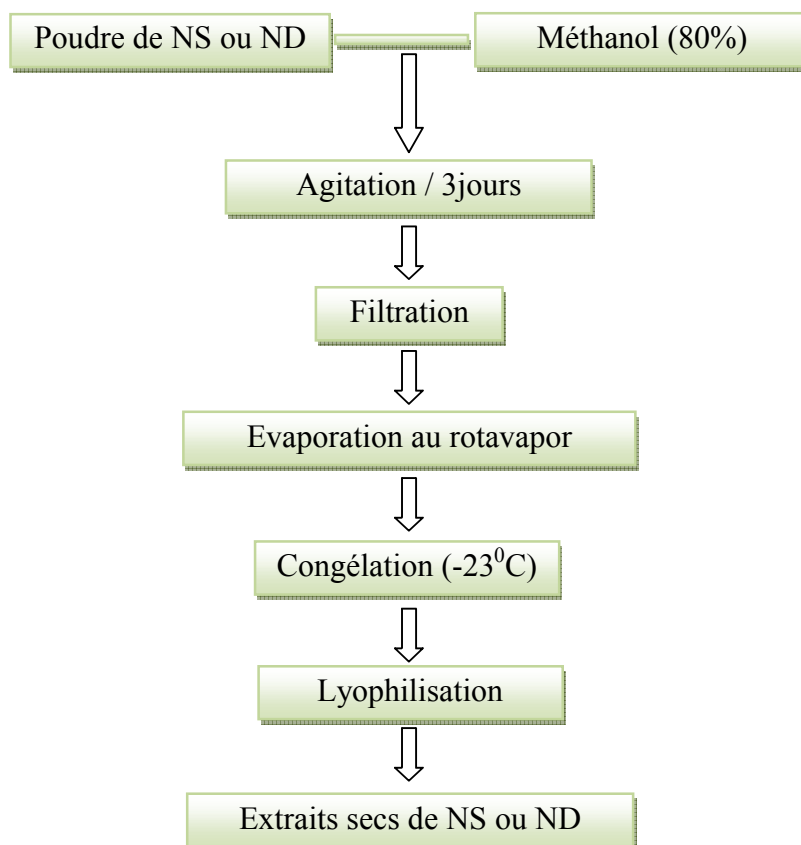


Figure 20 : Protocole de préparation des extraits des graines de nigelle (Mariod *et al.*, 2009)

2.5. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des composés phénoliques ainsi que la mesure de l'activité antioxydante *in vitro* des graines de NS et ND sont effectués à partir des extraits secs obtenus reconstitués dans du méthanol.

2.5.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu est utilisé pour le dosage des polyphénols totaux, il est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), qui sont réduits en présence de composés phénoliques en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de polyphénols présents dans le milieu réactionnel (Riberau-Gayon, 1968 ; Lapornik *et al.*, 2005).

Le protocole suivi pour le dosage des composés phénoliques est celui de Singleton et Rossi (1965) voir (figure 21). La conversion des absorbances en concentrations est faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage (annexe 02.a). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES).

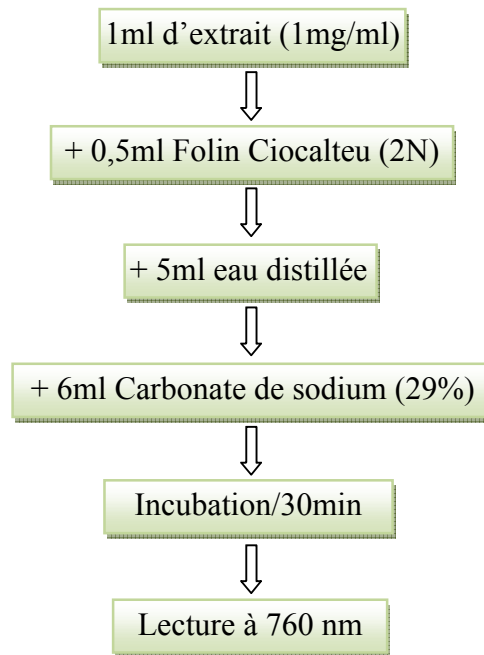


Figure 21 : Protocole de dosage des polyphénols totaux (Singleton et Rossi, 1965)

2.5.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée selon la méthode de Djeridane et ses collaborateurs (2006) (Figure 22). Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium qui donne une coloration jaunâtre mesurable 420nm. La courbe d'étalonnage tracée avec la quercétine (Annexe 02.b) est utilisée pour exprimer les résultats en mg EQ/g ES.

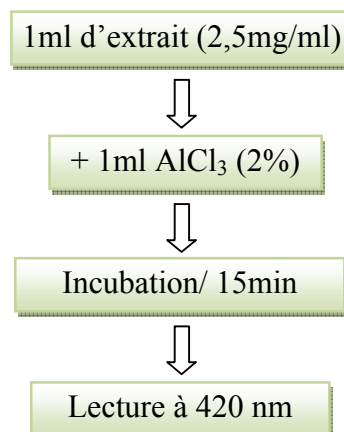


Figure 22 : Protocole de dosage des flavonoïdes (Djeridane *et al.*, 2006).

2.5.3. Dosage des tannins

Les tannins sont connus par leur propriété de précipiter les protéines en fonction des facteurs liés au milieu réactionnel (pH, température et temps). L'utilisation d'une protéine Bovine Sérum Albumine (BSA) dans le dosage des tannins en milieu acide a pour but de séparer ces derniers des autres polyphénols présents dans l'extrait par précipitation. Le chlorure ferrique (FeCl_3) réagit avec les tannins (en milieu alcalin : SDS/TEA) pour former des chélates de couleur généralement violette (Fe-phénolate) qui est mesurée par spectrophotométrie (Hagerman et Butler, 1989).

Les absorbances sont converties en concentrations à l'aide d'une courbe d'étalonnage tracée en utilisant différentes concentrations de l'acide tannique et les résultats sont exprimés en mg équivalent acide tannique par g d'extrait sec (mgEAT/g ES) voir (annexe 02.c).

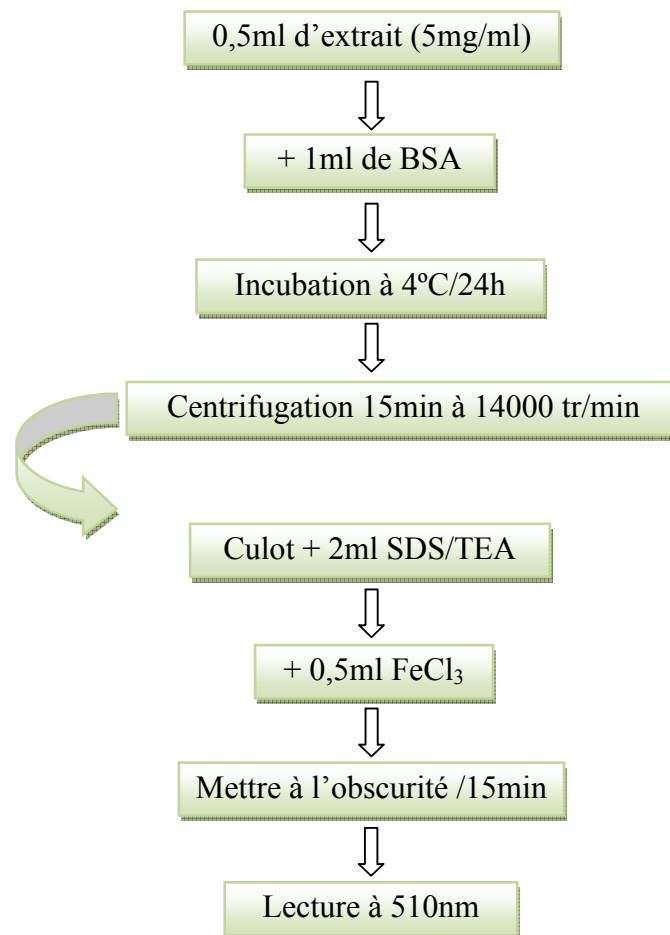


Figure 23 : Protocole de dosage des tannins (Hagerman et Butler, 1989).

2.6. Etude *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits de NS et ND

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits de NS et de NS, deux tests ont été effectués : celui du pouvoir réducteur et de l'activité anti-radicalaire au radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl).

2.6.1. Test du Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure en fer ferreux. La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait. La mesure du pouvoir réducteur est réalisée selon la méthode d'Oyaizu (1986). Le pouvoir réducteur est exprimé en milligramme équivalent de standard utilisé par gramme d'extrait sec. La conversion des absorbances en concentrations est faite à l'aide de deux courbes d'étalonnage tracées avec différentes concentrations de quercétine et d'acide gallique respectivement (annexe 02.d et e).

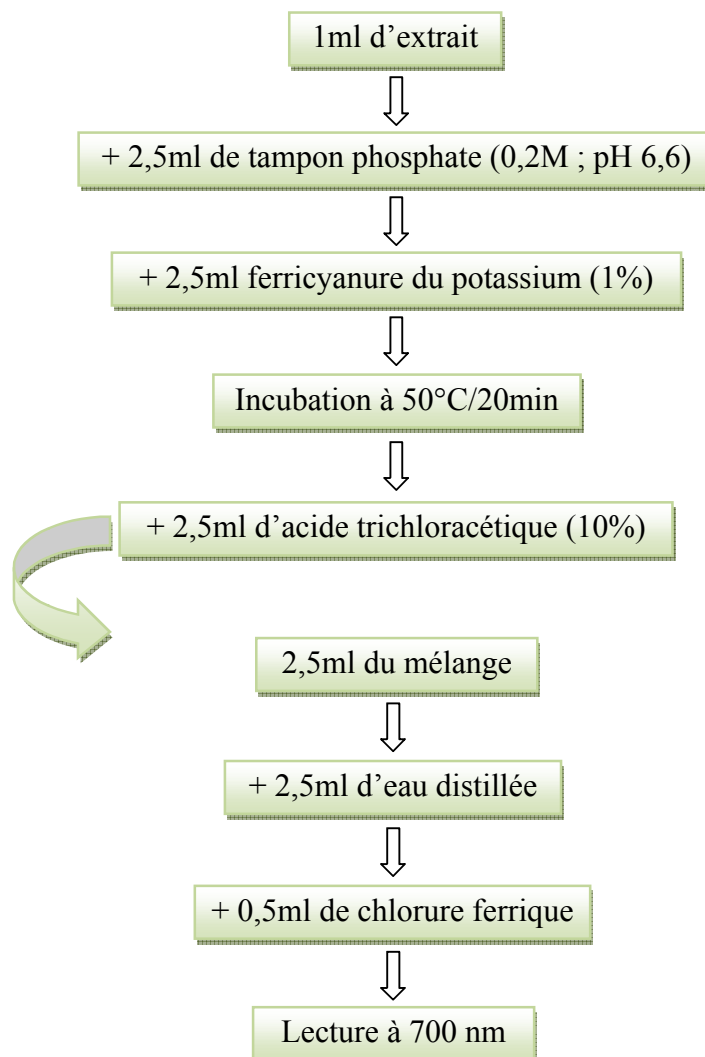


Figure 24 : Protocole de l'évaluation du pouvoir réducteur (Oyaizu, 1986).

2.6.2. Test de l'activité anti-radicalaire au DPPH

Le radical DPPH (solution violette) est réduit par un transfert d'hydrogène et d'électron qui proviennent des différents antioxydants se trouvant dans le milieu réactionnel selon la réaction schématisée dans la figure 25. La réaction de réduction du DPPH provoque la diminution de l'intensité de la couleur (décoloration) qui est mesurée par spectrophotométrie à 517 nm (Molyneux, 2004).

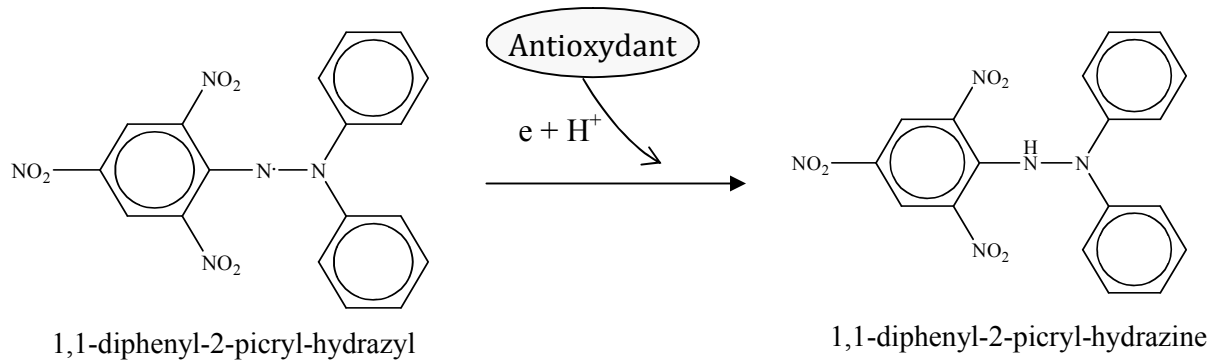


Figure 25 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant (Molyneux, 2004).

Pour déterminer l'activité réductrice au radical DPPH des deux types d'extraits, la méthode de Blois et ses collaborateurs (1958) est utilisée dont les étapes sont schématisées dans la figure ci-dessous.

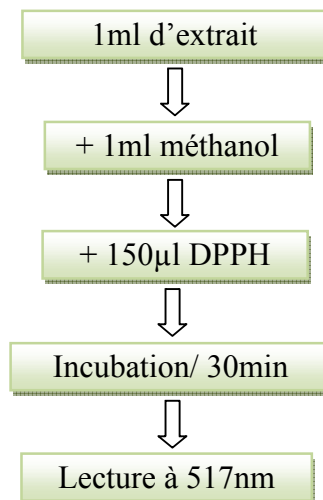


Figure 26 : Protocole de mesure de l'activité anti-radicalaire *in vitro* (Blois *et al.*, 1958).

➤ Expression des résultats

Les résultats de l'activité anti-radicalaire sont exprimés en pourcentage en appliquant la formule suivante :

$$\text{Réduction de DPPH (\%)} = \frac{Abs_t - Abs_e}{Abs_t} \times 100$$

Dont : Réduction de DPPH (%) : Pourcentage de réduction du radical DPPH

Abs_t : Absorbance du témoin

Abs_e : Absorbance de l'échantillon

2.7. L'Etude *in vivo* de l'activité antioxydante des extraits de NS et ND

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vivo* a été réalisée sur des souris *Swiss albinos* en mesurant l'activité anti-radicalaire du plasma du sang des souris vis-à-vis le radical DPPH.

Les extraits secs de NS et ND obtenus après lyophilisation sont reconstitués dans le sérum salé (9%) et sont utilisés pour le gavage des souris.

Pour se faire, les souris étaient réparties selon leur poids en quatre groupes ; les souris de chaque groupe ont un poids voisin.

- **CLT** : Groupe contrôle témoin formé de cinq souris, qui ont reçu une solution saline seulement (sans extraits).
- **EBrNS₁** : Groupe formé de trois souris, traité avec l'extrait brut (EBr) de NS de concentration 800mg d'extrait par kg du poids corporal.
- **EBrNS₂** : Groupe formé de trois souris, traité avec l'extrait brut de NS de concentration 500mg d'extrait par kg du poids corporal.
- **EBrND** : Groupe formé de trois souris traité avec l'extrait brut de ND à concentration 154,2 mg d'extrait par kg du poids corporal.

Chaque souris été gavé quotidiennement durant trois semaines par une quantité de 250µl/jours.

2.7.1. Prélèvement sanguin

Le choix de la technique du prélèvement est basé sur : l'espèce animale utilisée, l'accessibilité des vaisseaux, la quantité de sang nécessaire, le nombre et la fréquence des prélèvements ainsi que sur l'expérience pratique de la personne effectuant la prise de sang.

À la fin de la période de gavage, des prélèvements sanguins ont été réalisés par ponction cardiaque (Figure 27) pour chaque souris après traitement anesthésique. Ce dernier est réalisé par la mise de la souris dans un dessiccateur contenant un bout de coton imbibé du chloroforme (Figure 27-a). La souris est ensuite placée en décubitus dorsal puis fixée afin de l'immobiliser en cas de son réveil. Le sang est recueilli dans des tubes héparines et par la suite centrifugé, les plasmas sont récupérés dans des eppendoffs et conservés à froid jusqu'à leur utilisation.

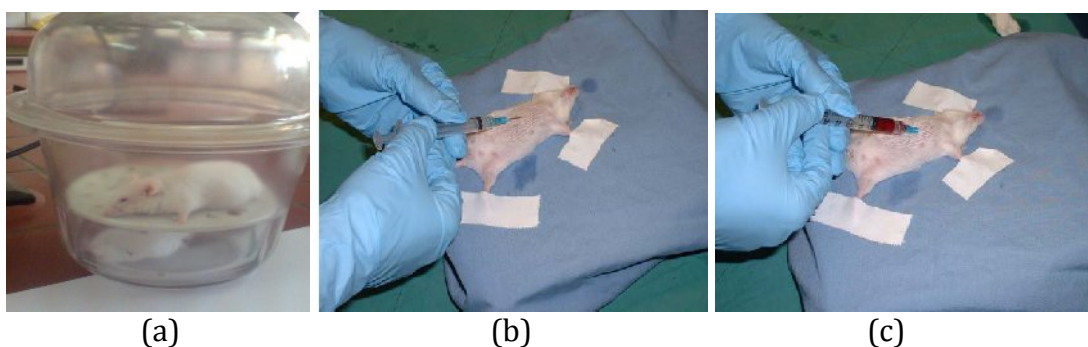


Figure 27 : Anesthésie (a) et prélèvement sanguin par ponction cardiaque (b et c)

2.7.3. Mesure de l'activité antioxydante plasmatique

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire est faite par la mesure du pouvoir réducteur au radical DPPH par les antioxydants plasmatiques selon la méthode rapportée par Mansouri et ses collaborateurs (2005) qui est représentée dans la figure suivante.

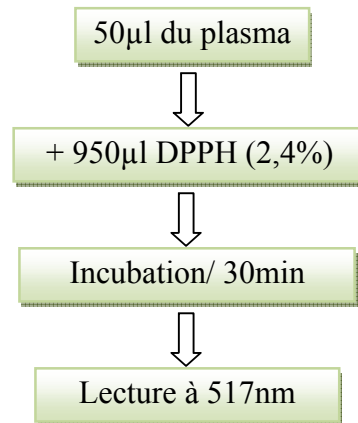


Figure 28 : Protocole de mesure de l'activité anti-radicalaire *in vivo* (Mansouri *et al.*, 2005)

2.8. Analyses biochimiques du plasma

Dans le but de voir est ce qu'il y a une influence du gavage sur la composition biochimique du sang des souris d'expérimentation, des tests biochimiques ont été réalisés au niveau du laboratoire d'analyses médicales Djama (Bejaia).

Les méthodes de mesure des paramètres biochimiques des plasmas ainsi que leurs principes sont regroupés dans le tableau VI. Les protocoles internes au laboratoire utilisés sont schématisés dans la figure 29.

Tableau VI : Méthodes de mesure des paramètres biochimiques des plasmas

Paramètre (Standard)	Méthodes et Réactifs	Réactions (Couleur et λ)	Facteur *
Protéines totales (BSA)	Méthode de Biuret. Réactif composé de : sulfate de cuivre, iodure de sodium, iodure de potassium, tartrate de sodium et de potassium.	Protéines + Cu^{++} \rightarrow complexe Cu-protéines (bleu violacé, 540nm)	700
Albumine (Albumine)	Colorimétrique au vert de Bromocrésol (BCG). Réactif de vert de Bromocrésol.	Albumine + BCG \rightarrow complexe albumine-BCG (bleu-vert, 640nm)	500
Glycémie (Glucose)	Colorimétrique enzymatique Trinder Glucose oxydase-Peroxydase (GOD-POD). Réactif (R_G) composé de : GOD, POD, Phenol et de 4-Aminophénazone.	β -D-Glucose + O_2 + $\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{GOD}}$ Acide Gluconique + H_2O_2 H_2O_2 + phénol + 4-Aminophénazone $\xrightarrow{\text{POD}}$ Quinone + H_2O (rose, 505nm)	1000
Triglycérides (Triglycérides)	Colorimétrique enzymatique glycérol-3-oxydase-peroxydase (GPO-POD). Réactif (R_T) composé de : lipoprotéine-lipase (LPL), glycérol-kinase (GK), GPO, POD, 4-Aminophénazone et de pchlorophénol.	Triglycérides + 3 $\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{LPL}}$ Glycérol + 3 RCOOH $\text{Glycérol-3-phosphate} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{GPO}}$ Dihydroxyacétone-phosphate + H_2O_2 H_2O_2 + 4-Aminophénazone + p-chlorophénol $\xrightarrow{\text{POD}}$ Quinone + H_2O + HCl (rouge, 500nm)	2000
Urée (Urée)	Colorimétrique enzymatique à l'uréase. Réactif (R_U) composé de : uréase, hydroxyde de sodium, hypochlorite de sodium (NaClO), nitroprusside de sodium et de salicylate de sodium.	Urée + $\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Uréase}}$ 2 NH_4^+ + CO_2 NH_4^+ + salicylate + $\text{NaClO} \xrightarrow{\text{Nitroprusside}}$ Indophénol (vert olive, 580nm)	500
Cholestérol (Cholestérol)	Colorimétrique enzymatique cholestéroxydase-peroxydase (CHOD-POD). Réactif (R_C) composé de : cholestérol-estérase (CHE), CHOD, POD, Phénol et de 4-Aminophénazone.	Esters de cholestérol + $\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{CHE}}$ Cholestérol + acides gras $\text{Cholestérol} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{CHOD}}$ Δ^4 -Cholesténone + H_2O_2 $2\text{H}_2\text{O}_2$ + 4-Aminophénazone + phénol $\xrightarrow{\text{POD}}$ Quinonimine + 4 H_2O (rose, 505nm)	2000

* Les concentrations des différents paramètres sont calculées comme suit : $Teneur (g/l) = \frac{A_E}{A_S} \times Facteur$ dont : A_E : absorbance de l'échantillon ; A_S : absorbance

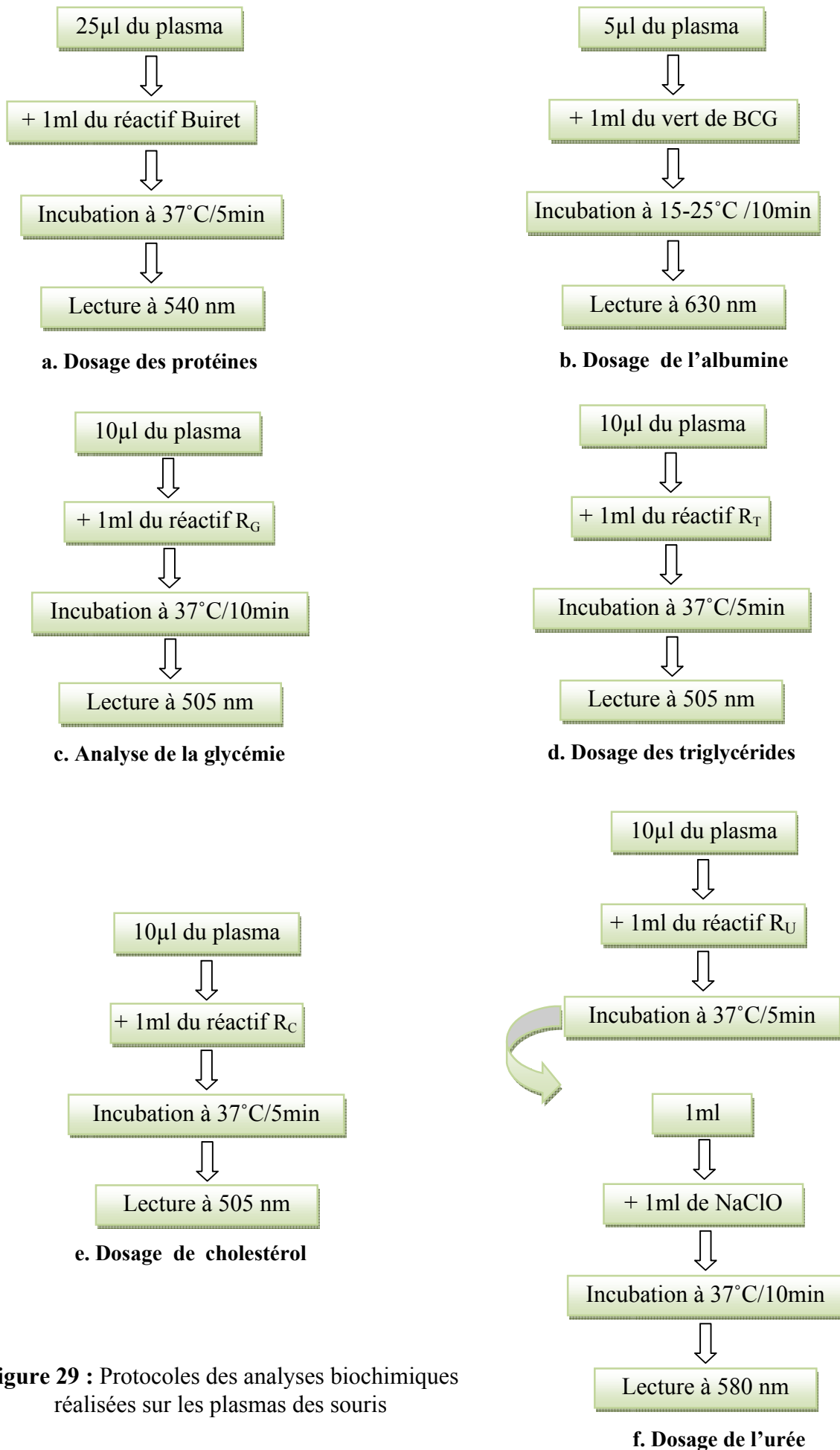


Figure 29 : Protocoles des analyses biochimiques réalisées sur les plasmas des souris

3. Analyse statistique

Pour la comparaison des différents résultats obtenus : teneurs en composés phénoliques, activité antioxydante *in vitro* et *in vivo* des extraits de NS et ND ainsi que ceux des tests biochimiques, une analyse de la variance est réalisée à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5. Le degré de signification des données est pris à la probabilité $p < 0,05$.

Résultats et discussion

1. Résultats du test d'humidité

La teneur en humidité des graines est un facteur décisif pour leur conservation, car l'humidité est à l'origine de nombreuses réactions chimiques et contaminations microbiologiques.

Les résultats du test d'humidité réalisé sur les deux espèces de nigelle, indique que le pourcentage d'humidité des graines de *Nigella sativa* L. (NS) est de 5,71% et supérieur à celui de *Nigella damascena* L. (ND) qui est de 3,41%. Ce dernier est très proche du taux d'humidité des graines de ND trouvé par Chaker (2007) qui est de 3,43%. En revanche le résultat obtenu pour les graines de NS est légèrement différent comparant à ceux obtenus par Nergiz et Otles (1993) et Tuter *et al.*, (2003) qui ont rapporté des teneurs de 6,4 et 7,3% respectivement. Cette différence peut être due aux variations dans les facteurs environnementaux des régions où ces graines ont été cultivées et aux conditions du stockage.

2. Résultats d'extraction

Le protocole utilisé pour l'extraction est celui de Mariod et ses collaborateurs (2009) avec le méthanol 80% (v/v) comme solvant pour extraire le maximum de composés phénoliques (hydrophobes et hydrophiles).

Le méthanol est le solvant le plus recommandé pour l'extraction des polyphénols et possède l'avantage d'être plus facilement éliminé (Ribéreau-Gayon, 1968 ; Scehovic, 1990 ; Owen et Johns, 1999).

Le rendement en extrait est exprimé par rapport au poids de la poudre initialement utilisée (tableau VII).

Tableau VII : Rendement d'extraction

	Poids de l'extrait sec (g)	Rendement d'extraction (%)
NS	200	11,51
ND	5,41	20,89

Ces résultats montrent que l'extrait brut de ND présente un rendement plus élevé par rapport à celui de NS.

3. Résultats du dosage des composés phénoliques

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études ont montré que des facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Aganga, 2001 ; Pedneault *et al.*, 2001).

3.1. Teneurs en polyphénols totaux

La plupart des études effectuées sur NS et ND ont été réalisées sur les huiles essentielles des graines, alors qu'il y a peu d'investigations sur les composés phénoliques. Le dosage des polyphénols totaux montre que ND est légèrement plus riche que NS avec des teneurs $51,13 \pm 2,75$ et $42,27 \pm 2,57$ mg EQ/g ES respectivement. La différence entre ces deux valeurs est statistiquement significative (Tableau VII).

Les résultats trouvés dans cette étude pour NS sont supérieurs à ceux rapportés par Mariod *et al.* (2009), Meziti (2009) et Boudiaf (2006) qui sont successivement de 27,8 ; 33,64 et 24,36 mg/g. Cela peut être dû à l'origine des graines, le temps d'incubation, ou bien au standard utilisé pour tracer la courbe d'étalonnage en effet, ces trois auteurs ont utilisé l'acide gallique par contre dans ce présent travail c'est la quercétine qui est utilisée.

3.2. Teneurs en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de ND est trois fois supérieure que celle de NS avec une différence significative (Tableau VII). Le résultat Pour NS est de $0,82 \pm 0,06$ mg EQ/g ES, inférieur à ceux rapportées par Meziti (2009) qui est de 3,8 mg/g ES et par Boudiaf (2006) qui est de 3,28 mg/g ES. Le taux en flavonoïdes de l'extrait de ND est $2,42 \pm 0,17$ mg EQ/g ES supérieur à la teneur trouvée par Chaker (2007) qui est de 0,38 mg EQ/g ES.

Cette différence peut être attribuée aux différents facteurs tels que l'origine des graines, conditions de stockage, méthode d'extraction.

3.3. Teneurs en tannins

L'évaluation de la teneur en tannins peut être influencée par plusieurs facteurs tels que : la sensibilité des tannins à plusieurs voies de dégradation (l'oxydation, la lumière, ...).

D'après les résultats obtenus, il n'y a pas une différence significative entre la teneur en tannins des graines de ND ($2,25 \pm 0,32$ mg/g ES) et celle de NS ($2,13 \pm 0,30$ mg/g ES) (Tableau VIII).

Les teneurs trouvées par Chaker (2007) pour ND et NS qui sont de 1,55mg/gES et 1,88mg/gES respectivement sont inférieures à celles trouvées dans ce présent travail.

Pour comparer les teneurs en composés phénoliques des graines des deux espèces de nigelle, les résultats sont présentés dans la figure 28.

Tableau VIII : Teneurs en composés phénoliques de *N. sativa* L. et *N. damascena* L.

	Polyphénols (mg EQ/g ES)	Flavonoïdes (mg EQ/g ES)	Tannins (mg EAT/g ES)
<i>Nigella damascena</i> L.	$51,13 \pm 2,75$	$2,42 \pm 0,17$	$2,25 \pm 0,32$
<i>Nigella sativa</i> L.	$42,27 \pm 2,57$	$0,82 \pm 0,06$	$2,13 \pm 0,30$

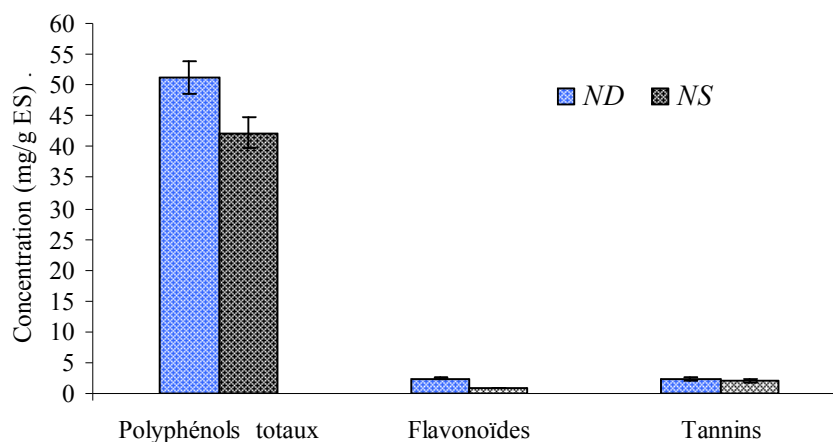


Figure 30 : Teneurs en composés phénoliques de *Nigella sativa* et *Nigella damascena*

3.4. Résultats de l'étude *in vitro* de l'activité antioxydante

La mesure quantitative des substances antioxydantes ne permet pas à elle seule d'évaluer l'activité antioxydante de ces molécules. Plusieurs tests sont utilisés, la plupart se reposent sur le transfert d'électron et/ou de proton.

Dans cette présente étude deux méthodes sont utilisées pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits de ND et NS, la première est le pouvoir réducteur qui mesure la capacité de transfert d'électron par la réduction des ions fer ferrique (Fe^{+++}) en fer ferreux (Fe^{++}) et la deuxième consiste à évaluer la capacité de transfert d'électron et de proton par la réduction du radical DPPH.

3.4.1. Résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur

La révélation du pouvoir réducteur se manifeste par l'apparition d'une coloration verdâtre dont l'intensité de la couleur mesurée à 700nm, dépend essentiellement de la quantité des réducteurs dans le milieu testé. En effet, l'absorbance augmente au fur et à mesure que cette quantité augmente.

Les résultats des absorbances des deux extraits de *Nigella sativa* L et *Nigella damascena* L sont présentés dans la figure 31.

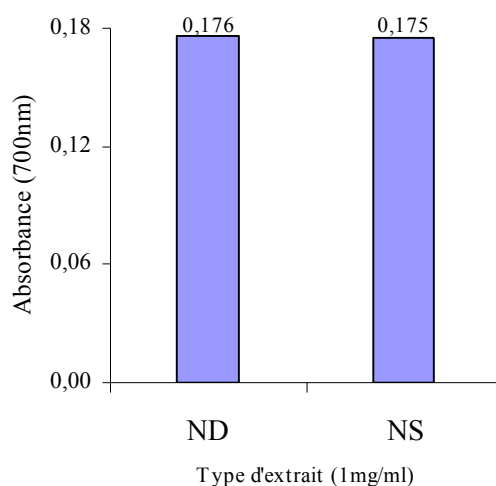


Figure 31 : Résultats du test pouvoir réducteur

D'après la figure 29 les absorbances des deux extraits ND et NS sont presque identiques, ce qui signifie que les pouvoirs réducteurs des deux plantes sont similaires et cela revient peut être au fait que la quantité de réducteurs est proche dans ces deux espèces de nigelle.

Même résultat a été trouvé en évaluant le pouvoir réducteur par la mesure de la quantité de réducteurs présent dans les échantillons en utilisant deux standards : l'acide gallique et la quercétine (Tableau IX).

Tableau IX : Pouvoir réducteur des extraits de *Nigella sativa* L. et *Nigella damascena* L.

Extraits	Pouvoir réducteur	
	mg EAG/g ES	mg EQ/g ES
<i>Nigella damascena</i> L.	13,19 ± 1,46	1,11 ± 0,12
<i>Nigella sativa</i> L.	13,11 ± 0,53	1,03 ± 0,04

3.4.2. Résultats de l'activité anti-radicalaire au DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits de NS et ND vis-à-vis du radical DPPH exprimée en pourcentage d'inhibition de ce dernier est représentée dans la figure 30 qui révèle que les extraits de ND et NS possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante.

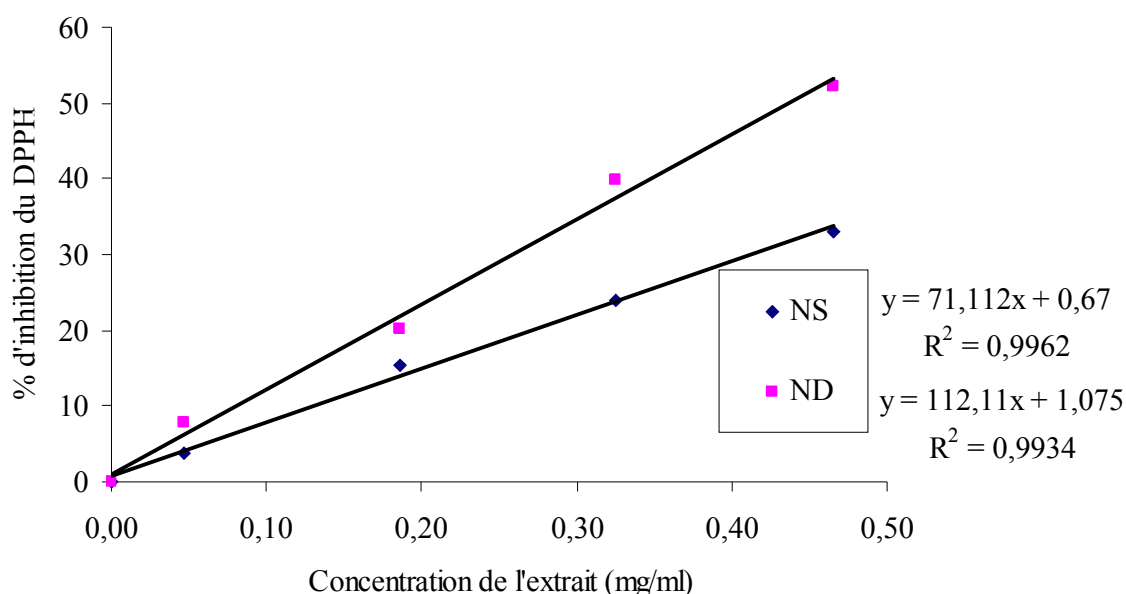


Figure 32 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits des graines de *Nigella sativa* L. et de *Nigella damascena* L.

Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)]. Ces valeurs montrent que la concentration inhibitrice de NS (**0,69mg/ml**) est plus importante que celle de ND (**0,44mg/ml**) ce qui signifie que l'extrait de cette dernière est le plus actif. Cela peut être attribué à la teneur élevée en composés phénoliques de ND par rapport à NS. Ces résultats

sont similaires à ceux obtenus par Javorkova et ces collaborateurs (2011) qui ont montrés que les extraits des différentes parties de la plante (feuilles, fleurs et graines) de *Nigella damascena* L. sont plus riche en composés phénoliques et ont une activité antioxydante au radical DPPH plus importante comparant à *Nigella sativa* L.

4. Résultats de l'étude *in vivo* de l'activité antioxydante

Bien que l'organisme vivant soit naturellement protégé contre les radicaux libres grâce aux antioxydants endogènes (acide urique, albumine, glutathion réduit...) et aux systèmes de détoxification enzymatiques ou chimiques, ces derniers peuvent être débordés suite à différents facteurs : génétiques, environnementaux, mode de vie, pathologiques, etc. D'où la nécessité d'un apport exogène en antioxydants.

Ce test a été donc effectué dans le but d'évaluer l'effet d'un apport exogène en antioxydant apporté par l'alimentation (extraits de NS et ND) sur la résistance d'un organisme vivant aux agressions radicalaires.

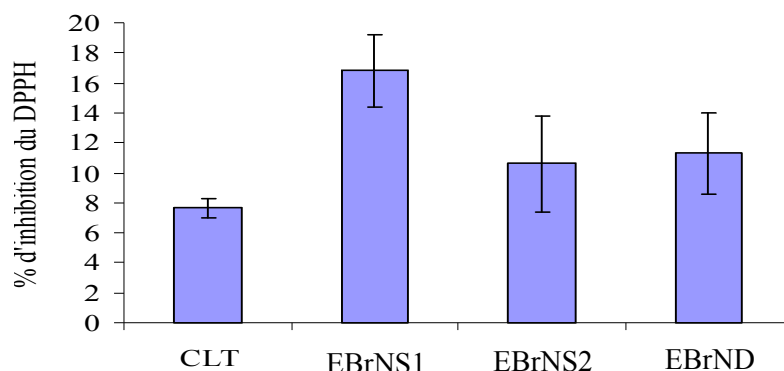
En effet, cette évaluation a été réalisée en mesurant la capacité antioxydante plasmatique (CAP) vis avis du radical DPPH.

Les résultats obtenus (Figure 31) montrent que l'administration de 500 mg/Kg en extrait méthanolique de *Nigella sativa* L. chez les souris du groupe EBrNS2 entraîne une augmentation (statistiquement non significative) de la capacité antioxydante plasmatique (**10,62 ± 3,21 %**) par rapport au groupe contrôle (**7,65 ± 0,64 %**). Cependant cette augmentation est significative (**16,80 ± 2,42 %**) chez les souris du groupe EBrNS1 suite à l'administration d'une doses plus élevées du même extrait (800 mg/Kg).

Le gavage des souris du groupe EbrND par l'extrait méthanolique de *Nigella damascena* L.(154 ml/kg) a entraîné une augmentation significative de la CAP (**11,31 ± 2,69%**) par rapport au groupe control CLT. Cette valeur est légèrement supérieure à celle obtenue chez les souris du groupe EbrNS2 (10,62 ± 3,21%) pour une concentration plus élevée en extrait de NS. Cela signifie que la l'activité antioxydante plasmatique de l'extrait de ND est plus élevée comparant à celle de NS.

Ce même test a été effectué par Meziti (2007) pour évaluer l'effet du traitement par l'extrait méthanolique de *Nigella sativa* L. sur la CAP chez les souris. Cependant, l'administration orale de cet extrait (500 et 800 mg/kg) pendant 20 jours a conduit une augmentation significative de la CAP par rapport au groupe contrôle.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante *in vivo* montrent que la CAP est proportionnelle à la concentration en extrait administré, donc il existe une corrélation entre le taux en composés phénoliques et la capacité antioxydante plasmatique. Cela laisse supposer que l'augmentation de cette dernière est attribuée aux antioxydants apportés par les extraits de gavage qui se retrouvent dans le plasma. Ces résultats exprimés en pourcentage d'inhibition au radical DPPH sont illustrés dans la figure 33.



CLT : groupe contrôle gavé avec le sérum salé.

EBrNS1 : groupe gavé avec l'extrait brut de *Nigella sativa* L. (800mg /kg du poids corporel) ;

EBrNS2 : groupe gavé avec l'extrait brut de *Nigella sativa* L. (500mg /kg du poids corporel) ;

EBrND : groupe gavé avec l'EbrND (154,2mg /kg du poids corporel).

Figure 33 : Capacité antioxydante plasmatique vis à vis du radical DPPH

5. Résultats des analyses biochimiques des plasmas des souris

Les résultats des différents tests biochimiques effectués sur les plasmas sanguins des quatre groupes de souris sont récapitulés dans le tableau ci-dessous.

Tableau X : Résultats des analyses biochimiques des plasmas des souris (g/l)

	Protides	Albumine	Glycémie	Urée	Cholestérol	Triglycérides
CLT	47,77 ± 3,49	32,24 ± 6,14	2,50 ± 1,35	0,76 ± 0,13	1,67 ± 1,00	1,93 ± 1,04
EbrNS1	40,01 ± 2,10	24,92 ± 2,11	1,87 ± 0,17	0,57 ± 0,14	1,31 ± 0,04	1,44 ± 0,67
EbrNS2	33,59 ± 7,38	25,28 ± 0,40	2,00 ± 0,52	0,56 ± 0,05	1,33 ± 0,18	1,40 ± 0,35
EbrND	40,25 ± 0,35	25,19 ± 0,58	1,57 ± 0,18	0,63 ± 0,06	1,39 ± 0,03	1,80 ± 0,04

L'analyse biochimique du plasma montre que les teneurs en protides et albumine des trois groupes de souris (EBrNS1, EBrNS2 et EBrND) ont diminués par apport au groupe contrôle. Ceci peut être du à la diminution du besoin de ces organismes en antioxydants endogènes (protéines enzymatiques et albumine essentiellement) suite à l'apport exogène en antioxydants apporté par les deux types d'extraits (figure 34).

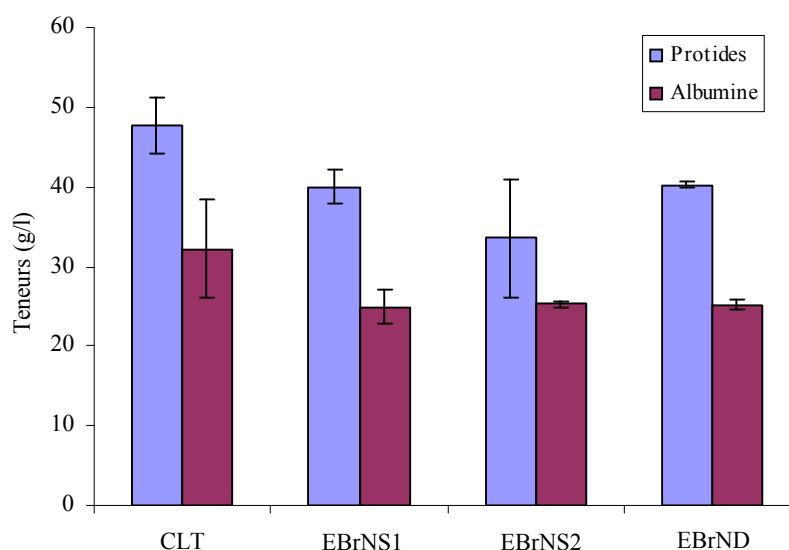


Figure 34 : Teneurs du plasma en protides et albumine

Une légère diminution de la glycémie a été observée au niveau des 3 groupes de souris gavées par les extraits comparant au groupe CTL (figure 34). Cela peut être expliqué d'après les recherches de Ilaiyaraja et Khanum (2010) effectuées sur la propriété antidiabétique de la nigelle par l'effet hypoglycémiant des composés phénoliques. Le traitement par l'extrait de NS exerce un effet protecteur contre le diabète en diminuant le stress oxydatif et en conservant la cellule bêta pancréatique.

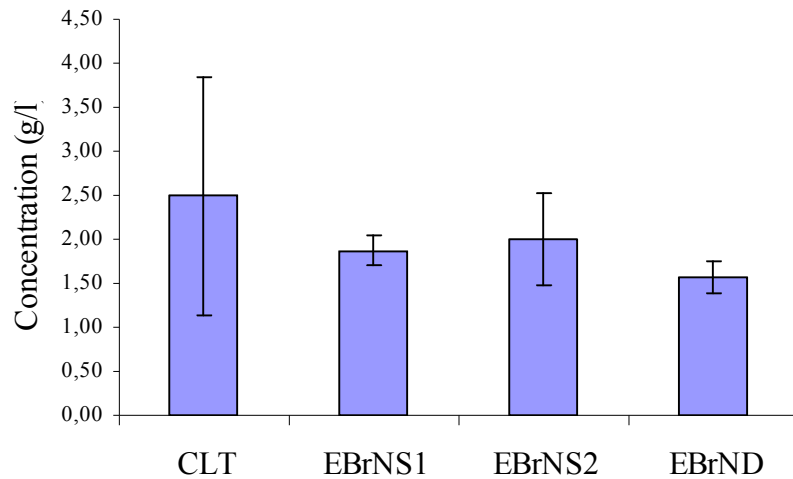


Figure 35 : Glycémie des souris

Le traitement des souris par les extraits de NS et ND n'a pas d'influence considérable sur les taux d'urée, cholestérol et triglycérides. Les résultats obtenus montrent un abaissement non significatif (figure 36)

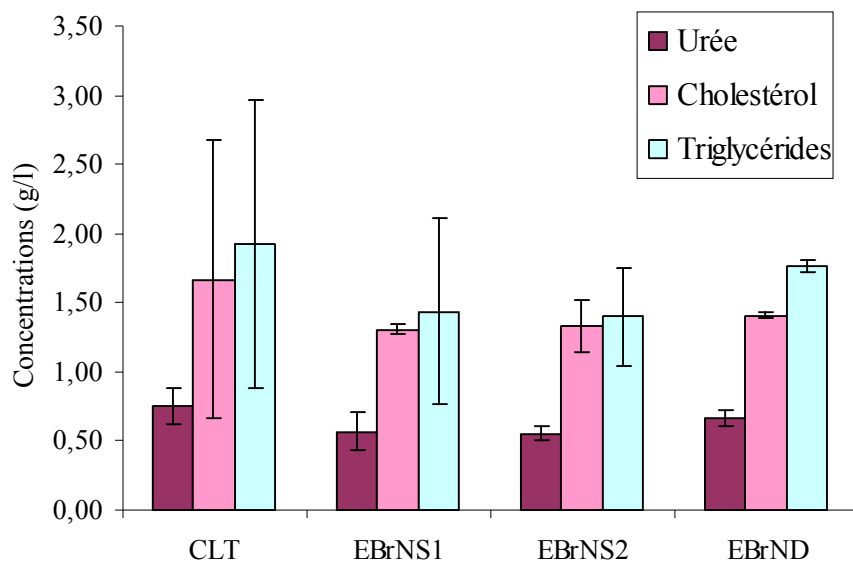


Figure 36 : Teneurs des plasmas en urée, cholestérol et triglycérides

Conclusion

Au cours de cette étude, nous avons effectué différentes analyses afin d'évaluer l'activité antioxydante *in vitro* et *in vivo* des graines de deux plantes médicinales : *Nigella sativa* L. (NS) et *Nigella damascena* L. (ND).

La partie *in vitro* est consacrée à l'extraction et au dosage des composés phénoliques totaux, flavonoïdes et tannins ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante par la mesure de l'inhibition d'un radical libre synthétique (le DPPH) et l'évaluation du pouvoir réducteur. La partie *in vivo* est réalisée sur des souris *Swiss albinos* et cela dans l'objectif de mettre en évidence l'activité antioxydante des extraits des deux plantes sur un modèle animal.

A l'issue de cette étude les résultats obtenus sont :

Le taux d'humidité des graines de NS est 5,71% supérieure à celui de l'espèce ND qui est de 3,41%. Le protocole d'extraction des composés phénoliques appliqué a permis d'obtenir des rendements d'extraction de 11,51% pour les graines de NS et 20,89% pour celles de ND.

La détermination quantitative des différentes catégories de composés phénoliques a montré que les graines de ND sont plus riches en polyphénols totaux ($51,13 \pm 2,75$ mg EQ/g ES pour ND et $42,27 \pm 2,57$ mg EQ/g ES pour NS) et en flavonoïdes ($2,42 \pm 0,17$ mg EQ/g ES pour ND et $0,82 \pm 0,06$ mg EQ/g ES pour NS) comparant à celles de NS. Cependant ces deux plantes ne sont pas riches en tannins et les valeurs obtenus ne présentent pas de différence significative ($2,25 \pm 0,32$ mg EAT/g ES et $2,13 \pm 0,30$ mg EAT/g ES pour ND et NS respectivement).

Le test anti-radicalaire au DPPH et celui du pouvoir réducteur effectués ont révélé que l'extrait méthanolique de ND présente une meilleure activité antioxydante comparant à celui de NS, leurs IC_{50} vis-à-vis du radical DPPH sont 0,48 et 0,69 mg/ml respectivement.

Le test *in vivo* de l'activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH effectué sur le plasma sanguin des souris a permis de noter que l'administration d'une dose de 800 mg/Kg en extrait méthanolique de *Nigella sativa* L. entraîne une augmentation plus significative de la capacité antioxydant plasmatique comparant à la dose 500 mg/Kg du même extrait. Ce qui peut supposer que la capacité antioxydante plasmatique est proportionnelle à la concentration en extrait jusqu'à une certaine dose où les antioxydants peuvent devenir des prooxydants.

Autre résultat auquel nous sommes parvenu est que l'activité antioxydante *in vivo* de l'extrait ND est plus élevée que celle de NS. Car le gavage d'un groupe de souris par 154mg/kg d'extrait méthanolique de ND a entraîné une augmentation significative de la CAP ($11,31 \pm 2,69\%$) par rapport au groupe control CLT. Cette valeur est proche de celle obtenue chez les souris gavées par une dose de 500mg/Kg d'extrait de NS qui est de ($10,62 \pm 3,21\%$)

Enfin pour déterminer l'effet des extraits des deux espèces de nigelle sur la composition biochimique du sang des souris, nous avons effectué des analyses du plasma. Les résultats obtenus montrent que les teneurs en protéides, albumine et glycémie ont diminués chez les

groupes de souris traitées par les extraits de NS et ND (EBrNS1, EBrNS2 et EBrND) comparant au groupe contrôle. Par contre ces deux extraits n'ont pas une influence significative sur les taux d'urée, cholestérol et triglycérides.

En considérant les résultats de cette études ceux établies aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*, on voit bien le réel intérêt que présente les extraits des graines *Nigella sativa* L. et *Nigella damascena* L. par leurs activités antioxydantes.

Afin de compléter ce présent travail, il serait intéressant :

- De caractériser les composés phénoliques des extraits des graines de NS et ND en utilisant des techniques plus développées (HPLC, SM et RMN) ;
- D'étaler l'étude sur d'autres organes de la plante (fleur, feuille, tige...), afin de déterminer la partie la plus riche en composés phénoliques ;
- D'étudier d'autres activités biologiques tell que l'activité antibactérienne ;
- D'étudier la cinétique de la lyse érythrocytaire, ceci dans le but d'évaluer l'activité antioxydante totale du sang chez les souris.

Références
bibliographiques

A

- **Agradi E., Fico G., Cillo F., Francisci C. et Tomè F. (2002).** Estrogenic activity of *Nigella damascene* extracts, evaluated using a recombinant Yeast Screen. *Phytotherapy Research*. 16: 414–416
- **Aljabre S.H.M., Randhawa M.A., Akhtar N., Alakloby O.M., Alqurashi A.M. et Aldossary A. (2005).** Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *Journal of Ethnopharmacology*. 101: 116-119.
- **Allard J., Royall D., Kurian R., Muggli R. et Jeejeebhoy K. (1994).** Effects of β -carotene supplementation on lipid peroxidation in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 59 : 884-90.
- **Al-Saleh A.I., Billedo G. et El-Doush I.I. (2006).** Levels of selenium, DL- α - tocopherol , DL- γ - tocopherol. All-trans-retinal, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *Journal of Food composition and Analysis*. 19:167-175.
- **Andaloussi A.B. (2009).** Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa* : sites d'action cellulaires et moléculaires. Thèse de Doctorat. Département de pharmacologie, Faculté de médecine. Université de Montréal. p. 249.
- **Antuono, F. et Hamaza, K. (2002).** Composition of *Nigella sativa* and *Nigella damascena* from Egypt. *Planta medica*. 27: 142 -149.
- **Arora R. (2008).** Herbal radiomodulators: applications in medicine, homeland defence and space. *CAB International*. p 56.

B

- **Babish J.G., Pacioretty L.M. et Debenedetto J. (2011).** Novel composition from *Nigella sativa*. United States, *Patent Application Publication*. 12: 873-927.
- **Badary O.A., Abd-ellah M.F., El-Mahdy M.A., Salama S.A. et Hamada F.M. (2007).** Anticlastogenic activity of thymoquinone against benzo(a)pyrene in mice. *Food and Chemical Toxicology*. 45: 88–92.
- **Badary O.A., Taha R.A., Gamal-El-Din A.M. et Abdel-Wahab M.H. (2003).** Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug and chemical toxicology*. 26: 87-98.
- **Beloued A.K. (2001).** Nigelle cultivée. In « Plantes médicinales d'Algérie ». Ed Office de Publications Universitaires (OPU), Alger. p : 144-145.

- **Benazzouz L. (2005).** Etude des interactions protéines-polyphénols. Etude de cas : extrait de *Nigella sativa* L. avec la protéine Sérum Albumine Bovine. Thèse magistère en Biochimie-Biophysique Moléculaire, option: Techniques d'investigation Biophysique. Université Aberahmane Mira de Béjaia. 83p.
- **Bennick A. (2002).** Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.* 13(2): 184-196.
- **Berliner JA, Heineche JW. (1996).** The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Rad. Biol. Med.* 20: 707-27.
- **Bilal A. (2008).** Effects of different preparations of *Nigella sativa* (NS) on glucose and lipid metabolism in type II diabetic patients. *Food Technology.* 372: 01-252.
- **Blois M.S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 181: 1199–1200.
- **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., kandrani I., Falleh H. et Marzouk B. (2008).** Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologie.* 331: 48-55.
- **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. La Voisier TEC et DOC, Paris. 2ème édition. p : 268-277.

C

- **Cadenas E. et Davies J.A. (2000).** Free Radical. *Biol. Med.* p : 29-222.
- **Catier O. et Roux D. (2007).** Hétérosides flavoniques In: « Botanique Pharmacognosie Phytothérapie ». 3^{ème} Ed. Wolters Kluwer France. pp : 72-77.
- **Causse C. (2005).** Les radicaux libres. In : « les secrets de santé des antioxydants ». Ed. Alpen s.a.m. Amazon France. pp : 10-15.
- **Cheikh-Rouhou S., Besbes S., Hentati B., Blecker C., Deroanne C. et Attia H. (2007).** *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry.* 101: 673–681.
- **Campbell P.G.C., Pelletier E. et Denizeau F. (2004).** Défaillance de la synthèse des hormones corticostéroïdes : exposition de poisson et amphibiens aux métaux et aux pesticides In : « écotoxicologie moléculaire : principes fondamentaux et perspectives de développement ». Ed. Presses de l'université du Québec. Canada. p :161-190.

D

- **D'Antuono L.F., Moretti A. et Lovato A.F.S. (2002).** Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. *Industrial Crops and Products*. 15: 59–69.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. (2006).** Antioxidants activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97: 654-660.
- **Doepke W. et Fritsch G. (1970).** Alkaloid content of *Nigella damascena*. *Pharmacie*. 25: 69-70.
- **Dusser D. (1997).** Inflammation neurogène, radicaux libres et tabac. *Revue Française d'allergologie*. 37 (7) : 851-858.

E

- **Eberhard T., Robert A. et Annelise L. (2005).** Plantes aromatiques : Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec & Doc. Cachan. p. 343
- **El-Agbar Z.A., Shakya A.K., Khalaf N.A. et Al-Haroon M. (2008).** Comparative Antioxidant Activity of Some Edible Plants. *Turk J Biol*. 32: 193-196.
- **El-Dakhakhny M., Mady N.I. et Halim M.A. (2000).** *Nigella sativa* L. protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. *Arzne imittel forsch*. 50: 6-832
- **El-Dakhakhny M., Mady N.I. et Lember N. (2002).** The hypoglycemic effect of *Nigella sativa* oil is mediated by extrapancreatic actions. *Planta Med*. 65: 6-465.

F

- **Favier A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique*. Grenoble. p : 108-115..
- **Ferrari J. (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne.
- **Fico G., Bracaa A., Tomè F. et Morelli I. (2001).** A new phenolic compound from *Nigella damascena* seeds. *Fitoterapia*. 72: 462-463.
- **Frénot M. et Vierling E. (2001).** Les lipides. In : « Biochimie des aliments Diététique du sujet bien portant ». 2^{ème} Ed. Doin Paris. pp : 79-106.
- **Fridovich I. (1995).** Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review Biochemistry*. 64:97-112

G

- **Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. et Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *Actualité chimique*. p : 91-95.
- **Gene et Spiller M. (2007).** Au-delà des fibres – les extraits, les jus et les infusions. In : «tout savoir sur les fibres ». Ed. Les mieux-être, Canada. p : 276.
- **Gerard F. (1966).** Nouvelle flore usuelle et médicinale. T1. *Association des auteurs et artistes UNIS*. p. 112.
- **Gerhard R. (1993).** Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. *Lavoisier Tec and Doc*, p : 333-339.
- **Gervaise M.Y. (2004).** Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits. *Euroforum-Polyphénols*. p : 1-33.
- **Ghedira K. (2006).** La nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie*. 4: 1-7.
- **Ghedira K. et Le-Jeune R. (2010).** Huile de nigelle cultivée, *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie*. 8: 124–128.
- **Gilani A.U., Jabeen Q. et Khan M.A.U. (2004).** A Review of Medicinal Uses and Pharmacological Activities of *Nigella sativa*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 7 (4): 441-451.
- **Goudable J. et Favier A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Journal of Nutrition Clinique Métabolique*. 11 :115 -20.
- **Gutteridge JMC. (1995).** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*; 41: 1919-28.

H

- **Hagerman A.E. et Butler L.G. (1989).** Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. *Journal of chemical ecology*. 15 (6): 1795-1810.
- **Haleng J., Pincemail. J., Defraigne J.O., Charlier C. et Chapelle J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Médicale*. 62 (10) :628-638.
- **Halliwell B. (1989).** Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke?. *Acta Neurol Scand Suppl*. 126 : 23-33.
- **Halliwell B. (1994).** Free radicals, antioxidants, and human disease: interest, cause or consequence?. *The Lancet*. 344, 721-724.

- **Halliwell B. (1996).** Antioxidants. In: « human health and disease». *Annual Review of Nutrition*, 16 : 33-50.
- **Halliwell B. (1996).** Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie*; **44**: 6-13.
- **Halliwell B. (1997).** Antioxidants: the basics - what they are and how to value them. *Advances in Pharmacology*. 38 : 3-20.
- **Halliwell B. et Gutteridge J.M. (1988).** Free radicals and antioxidants protection: mechanisms and significance in toxicology and diseases. *Hum toxicol.* 7: 7-13.
- **Harborne J.B. et Williams C.A. (2000).** Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry*. 55: 481-504.
- **Hawsawi Z.A., Basil-Ali A., Abdullah O. et Bamosa. (2001).** Effect of *Nigella sativa* (black seed) and thymoquinone on blood glucose in albino rats. *Annals of Saudi Medicine*. 21 : 242-244,
- **Heiss A.G. et Oeggl K. (2005).** The oldest evidence of *Nigella damascena* L. (Ranunculaceae) and its possible introduction to central Europe. *Veget Hist Archaeobot* . 14: 562-570.
- **Heldt H-W., Pechulla B. et Fiona (CON) Heldt. (2005).** phénylpropanoïdes comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. In: «Plant Biochemistry ». 4^{ème} Ed. Academic Press Elsevier. London. pp : 435-454.
- **Hoffmann D., Fnimh et A.H.G. (2003).** Polyphénols In: « Medical herbalism: the science and practice of herbal medicine». Ed. Healing Arts Press Vermont. p : 90-119.
- **Horvath P.J. (1981).** The nutritional and ecological significance of acer-tannins and related polyphénols. MSc thesis, Cornell University, Ithaca, New York, USA.
- **Howlett T.A., Keogh A.M., Perry L., Touzel R. et Rees L.H. (1989).** Anterior and posterior pituitary function in brain-stem-dead donors. *Transplantation*. 47:828-34.
- **Hoy W.E., Sargent J.A., Hall D., McKenna BA., Pabico RC., Freeman RB., Yarger JM. et Byer B.M. (1985).** Protein catabolism during the postoperative course after renal transplantation. *American Journal of Kidney Diseases*. 5 3:186-90.
- **Ilaiyaraja N. et Khanum F. (2010).** *Nigella sativa* L: a review of therapeutic applications. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*. 4: 1-8.

I

- **Ichal C., Quintard H. et Orban J.C. (2011).** Oxygène et stress oxydant « In Désordre métabolique et réanimation : de la physiopathologie au traitement » Ed. Springer-Verlag France. p : 427 -438.

- **Iserin P.(1997).** *Nigella sativa*. In « Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparations, soins ».Ed. Larousse, Paris. p : 237.

J

- **Jarrige R., Ruchebusch Y., Demarquilly C., Farce M.H. et Journet M. (1995).** Les constituants de l'appareil végétatif des plantes fourragères In : « nutrition des ruminants domestiques : ingestion et digestion ». Ed. INRA Paris. pp : 25-82.
- **Javorkova V., Vaclavik J., Kubiinova R. et Muselik J. (2011).** Comparison of antioxidant activity and polyphenolic content in different extracts of *Nigella sativa*, *nigella orientali* and *nigella damascena*. *Acta fytotechnica et zootechnica. Special Number.* p.: 1-4.
- **Julies A., Christin M. (2002).** Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects and safety. *Annuel Review of Nutrition*; 22: 19-44.

K

- **Klein J.A. et Ackerman S.L. (2003).** Oxidative stress, cell cycle and neurodegeneration. . *J. Clin. Invest.* 111 : 785-793.
- **Kökdil G., İlçim A., Özbilgin B. et Uygun C. (2006).** Morphology and stem anatomy of some species of genus *Nigella* L. in Turkey. *J. Fac. Pharm.* 35 : 19 –641.
- **Koolman J. et Rohm K.M. (1999).** Atlas de poche de biochimie. Edition Medecine Science Flammarion. pp. : 189-221.
- **Krief S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda, activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat. Brunoy, 237 p.
- **Koppenol W. H. (2000).** Names for inorganic radicals. *Pure and Applied Chemistry.* 72 (3) : 437-446.
- **Kuresh A., Youdim A., Jeremy P.E., Spencer., Hangen S., Rice-Evans C. (2002).** Dietary flavonoids as potential neuroprotectants. *Biol Chem.* 383: 503-519.

L

- **Lapornik B., Prošek M. et Golc-Wondra A. (2005).** Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering.* 71: 214-222.
- **Lebre´ton P. (1986).** Les flavonoïdes, marqueurs systématiques chez les Renonculacées. *Planta Med Phytother.* 4: 275-286.

- **Leverve X., Cosnes J., Erny P. et Hasselmann M. (2001).** Radicaux libres, peroxydation et stress oxydant In : « traité de nutrition artificielle de l'adulte ». 2^{ème} Ed. *Springer-Verlag France*. pp : 235-246.
- **Levraut J., Iwas H., Shao Z.H., Vanden Hoek T.L. et Schumcher P.T. (2003).** Cell death during ischemia: relationship to mitochondrial depolarization and ROS generation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 284:549-558.

M

- **Macheix J.J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C. (2005).** Nature et diversité des composés phénoliques des végétaux In : « les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique ». Ed. PPur presses polytechniques et universitaire romandes. pp : 1-27.
- **Mahmoud M.R., EI-Abhar H.S. et Saleh S. (2002).** The effects of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* mice. *J Ethnopharmacol*. 79:1-11.
- **Mahmoudi Y. (1990).** La graine noire. In « Les plantes médicinales dans le Jardin prophétique ». Edition Palais du livre, Blida, Algérie. pp : 159-165.
- **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. et Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*. 89 : 411-420.
- **Mariod A.A., Mohamad-Ibrahim R., Ismail M. et Ismail N. (2009).** Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cummin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*. 116: 306-312.
- **Max W., Robert A. (2003).** Plantes thérapeutiques (tradition, pratique officinal, science et thérapeutique) .2^{ème} édition, P : 416.
- **Mc-Cord J. (1993).** Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem*; 26: 351-7.
- **Mc-Leod M.N. (1974).** Plant tannins- their role in forage quality. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 44: 803-815 .
- **Meddah B., Ducroc R., EI-Abbes-Faouzi M., Kto B., Mahraoui L., Benhaddou-Andaloussi A., Martineau L.C., Cherrah Y. et Haddad P.S. (2009).** *Nigella saliva* inhibits intestinal glucose absorption and improves glucose tolerance in rats, *Jornal Etknopharmacol*. 21(3) : 419-424.
- **Mercier J.P. et Godard P. (2001).** Réaction et réactifs : aspects généraux In : « chimie organique : une initiation ». 2^{ème} Ed. PPur presses polytechniques et universitaires romandes. p : 101-112.
- **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.

- **Meziti A. (2009).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Étude in vitro et in vivo. Thèse de magistère. Département des Sciences Biologiques. Université de EL-Haj Lakhdar (Batna).
- **Milane H., (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur. pp : 13-36.
- **Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*. 26 (2) : 211-219.

N

- **Negre R. (1962).** Petite flore des régions arides du Maroc occidental. Ed. CRNS paris. T1. pp. : 237-238.
- **Nergiz C. et Ötles S. (1993).** Chemical composition of *Nigella sativa* L. Seeds. *Food Chemistry*, 48: 259-261.
- **Nohl H. (1994).** Generation of superoxide radicals as byproduct of cellular respiration. *Ann Biol Clin*. 52:199-204.

O

- **Owen P.L. And Johns T. (1999).** Xanthine oxidase inhibitory of northeastern north american plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64: 149-160.
- **Oyaizu M. (1986).** Studies on products of the browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44: 307–315.
- **Özkanli I. (2006).** *Nigella sativa* Linneaus Black cumin oil as a therapeutic agent in medicine and dentistry -Past, present, and future -. *Argos Control*. 26: 1-78.

P

- **Padmashree A., Roopa N., Semwal A-D., Sharma G.K., Agathian G. et Bawa A-S. (2007).** Star-anise (*Illicium verum*) and black caraway (*Carum nigrum*) as natural antioxydants. *Food chemistry*. 35 : 1-8.
- **Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Rio D.D., Salvatore S., Bianchi M. et Bringhenti F. (2003).** Total antioxidant capacity of plant food, beverage and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J. Nutr*, 133: 2812-2819.
- **Peter K.V. (2004).** Nigella. In: <<Handbook of herbs and spices>>. *Woodhead Publishing Limited*. Ed. CRC. pp.: 218-226.
- **Poortmans J. R., et Boisseau N. (2003).** Stress et exercices. In : « Biochimie des activités physiques » Ed. De Boeck Université. pp. 411-432.

R

- **Rahman A.U., Malik S. et Clardy J. (1985).** Isolation and structure determination of nigellicine. *Tetrahedron, Pergamonpress, Oxford.* 26 (23): 2759-2762.
- **Riberau-Gayon P. (1968).** Notions générales sur les composés phénoliques. In: composés phénoliques des végétaux. *Dunod.* p : 005-133.
- **Roginsky V. et Lissi E.A. (2005).** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry.* 92: 235-254.
- **Ryter S.F. et Tyrell R.M. (2000).** The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro and antioxidant properties. *Free Rad. Res.* 36: 1299-1306.

S

- **Salih B., Sipahib T., Oybak-Donmez E. (2009).** Ancient nigella seeds from Boyalı Hoyuk in north-central Turkey. *Journal of Ethnopharmacology.* 124: 416-420.
- **Salem M.L. (2005):** Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology.* 5 : 1749-1770.
- **Scehovic J. (1990).** Tanins et autres polymères phénoliques dans les plantes de prairies: détermination de leur teneur et de leur activité biologique. *Revue suisse agric.* 22 (3): 179-184.
- **Sies H. (1991).** Oxidative stress: introduction. In: Oxidative stress, oxidants and antioxidants. H. Sies Ed. London. *London Academic Press;* pp 15-22.
- **Singleton V.L. et Rossi J.A.J. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144-158.
- **Skalli S. (2007).** Le Mauvais et le Bon Usage des Plantes. Centre Marocain de Pharmacovigilance (CMPV). 4 : 5.

T

- **Takruri, H.M.H. et Dameh, M.A.F. (1998).** Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa* L.). *Journal of the Sciences of Food Agriculture.* 76 : 404-410.
- **Tapiero H. (2006).** Les polyphénols In : « stress oxydatif et alicaments: prévention des maladies humaines ». Ed. E.D.K. Paris. pp : 15-25.
- **Thiebault C.M. et Sprumont P. (1998).** Radicaux libres et croissances In : « l'enfant et le sport : introduction à un traité de médecine du sport chez l'enfant ». Ed. De Boeck et Larcier s.a. Paris, Bruxelles. pp : 141-152.
- **Tillequin F., Leconte C. et Paris M. (1976).** Sesquiterpene hydrocarbons from *Nigella damascena* seeds. *Planta Med.* 30: 59-61.

- **Timofeyev, M.A. (2006).** Antioxidant enzyme activity in endemic Baikalean versus Palaearctic Amphipods: Tagma and size related changes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part B. 143 : 302–308.
- **Touscher E., Anton R et Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques. Ed. techniques et documentation. Lavoisier. PP : 416-444.
- **Tuter M., Secundo F., Riva S., Aksoy A. et Ustun G. (2003).** Investigation of substrate selectivity of *Nigella sativa* seed lipase(s). *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80: 43-48.
- **Tutin T., Heywood V., Burges N., Valentine D., Waltler S. et Webb D. (1964).** In Flora europea. *Cambridge University Press.* P. 209.

V

- **Van-Acker S.A.B.E., Van-Den-Berg D.J., Tromp M.N.J.L., Griffioen D.H., Van-Bennekom W.P., Van-Der-Vijgh W.J.F. et Bast A. (1996).** Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids. *Free Rad. Biol. Med.* 20: 331-342.
- **Van-der-Veen M. (1996).** The plant remains from Mons Claudianus, a Roman quarry settlement in the Eastern Desert of Egypt—an interim report. *Vegetation History and Archaeobotany.* 5: 137-141.
- **Verzelloni E., Tagliazucchi D. et Conte A. (2007).** Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsam vinegar. *Food Chemistry*, 105: 564-571.
- **Volak J. et Stodola J. (1993).** Nigelle cultivée. In « Plante médicinales, 256 illustrations en couleurs ». Edition Grund, Paris. p : 205.

W, Y, Z

- **Wu D. et Cederbaum A. I. (2003).** Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. *Alcohol Research and Health.* 27 (4): 277-284.
- **Yoshimitsu H., Nishida M., Okawa M. et Nohar T. (2007).** Four New Triterpene Glycosides from *Nigella damascene*. *Chem. Pharm. Bull.* 55 (3) 488-491.
- **Zaoui A., Cherrah Y. et Alaoui K. (2002).** Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *J. Ethnopharmacol.* 79: 6-23.
- **Zohary D. et Hopf M., (2000).** Domestication of Plants in the Old World: The Origin and Spread of Cultivated Plants in West Asia Europe and the Nile Valley. Oxford University Press, Oxford.

Annexes

Annexe 01: Matériels et réactifs utilisés

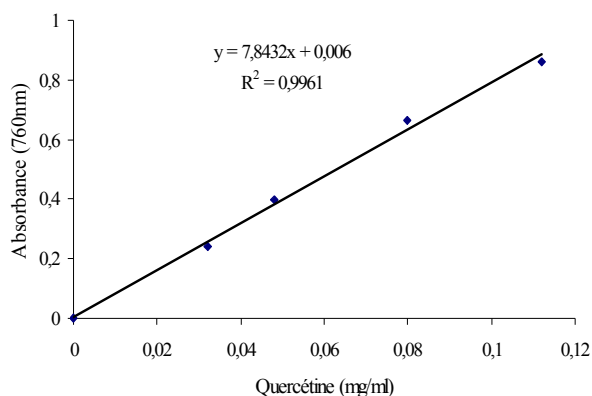
1.1 Matériels

- Balance de précision : Sartorius
- Balance : RAD WAGR
- Broyeur : IKA
- Centrifugeuse de paillasse : MIKRO 120
- Centrifugeuse : SIGMA
- Cuve en verre
- Etuve : MEMMERT
- Etuve : ECOCELL
- PH mètre WTWPH 422
- Spectrophotomètre : spéctro scan 50 UV-VIS spectrophotometer
- Tamiseur : Retsch .AS 200
- Vortex : VELP scientifica

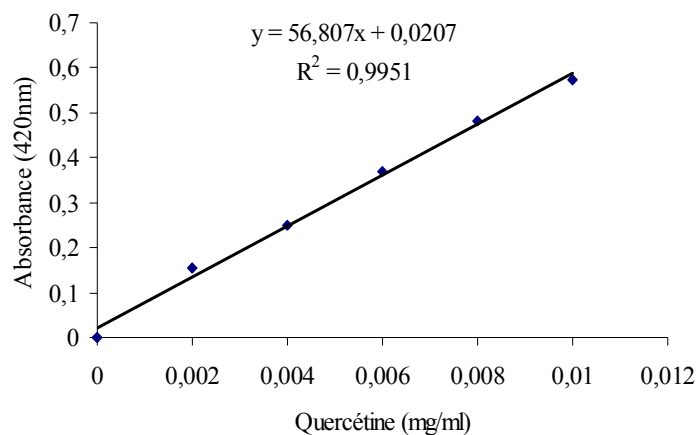
1.2 Réactifs

- Acide acétique glacial : CH_3COOH , 99-100% (Biochem Chemopharma)
- Acide gallique : $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{H}_2\text{O}$, $M=188.14$ (Biochem Chemopharma)
- Acide tannique (sigma)
- Acide Triethanol amine TEA
- Acide tricoloacétique (TCA): $\text{C}_3\text{Cl}_3\text{HO}_2$, $M=163.39\text{g/mol}$ (Biochem
- Chlorure d'aluminium (AlCl_3), (PROLABO)
- Chlorure ferrique (FeCl_3)
- Chlorure de sodium (NaCl)
- Chlorure d'hydrogène (HCl)
- Ferrocyanure de potassium : $\text{C}_3\text{FeK}_4\text{N}_6.3\text{H}_2\text{O}$, $M=422.41$ (Biochem
- Folin ciocalteu (PROLABO)
- Méthanol à 80%: CH_3OH , $M=32.04\text{g/mol}$, $d=0.79$ (PROLABO)
- Quercétine (Riedel de Haen)
- Phosphate diosodique (Na_2HPO_4)
- Phosphate monosodique (NaH_2PO_4)
- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Sodium dodesyl sulfate (SDS)
- Serum Bovine Albumine (BSA) (Biochem Chemopharma)
- Réactif de Folin Ciocalteu (Prolabo)
- DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) (Biochem).

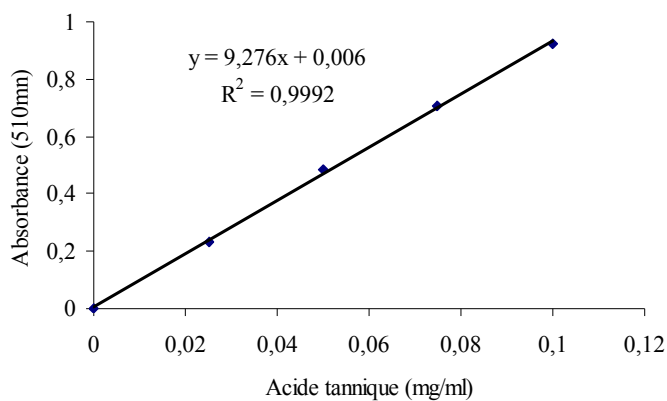
Annexe 02 : Courbes d'étalonnage



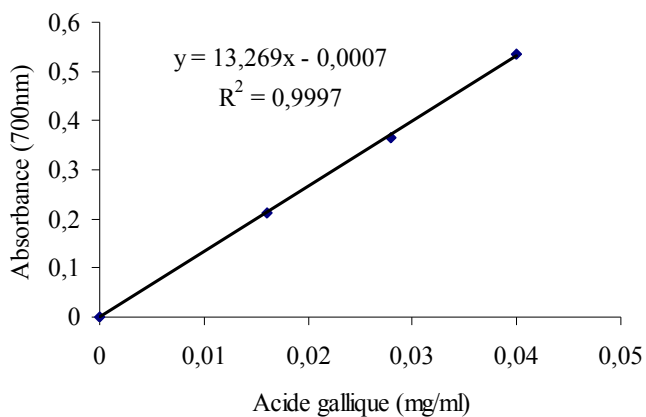
a- Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.



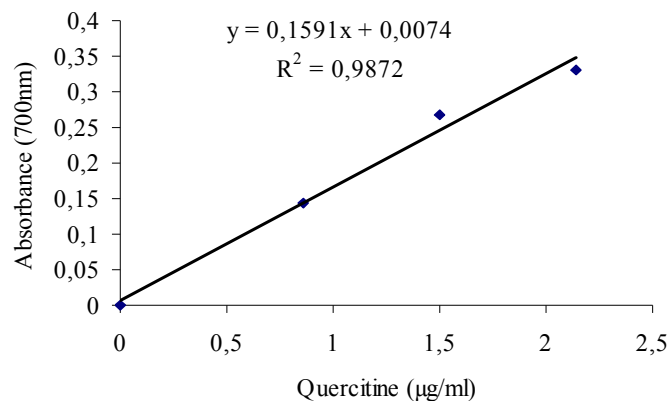
b- Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.



c- Courbe d'étalonnage des Tannins.



d- Courbe d'étalonnage pour le pouvoir réducteur.



e- Courbe d'étalonnage pour le pouvoir réducteur.

Glossaire

Allantoïne : L'allantoïne est un composé chimique azoté, de formule $C_4H_6N_4O_3$, d'origine organique ou végétale.

Antispasmodique : substance qui permet de lutter contre les spasmes, agit généralement en empêchant la contraction des fibres musculaires de l'intestin et des voies urinaires.

Artériosclérose : dégénérescence des parois des artères qui provoque leur durcissement et leur épaissement.

Arthrite rhumatotoïde : c'est une maladie chronique caractérisée par une inflammation articulaire évoluant par poussées, de cause inconnue, se traduisant par des douleurs, des gonflements, de la rougeur et une sensation de chaleur.

Bilirubine : est le principal produit de dégradation de l'hème. La bilirubine est formée principalement dans la rate, grâce à deux enzymes, l'hème oxygénase (microsomale) et la biliverdine réductase (cytosolique).

Biliverdine : Pigment (colorant) de couleur verte contenu dans la bile et provenant de l'hémoglobine.

Carminatif : qui résorbe les gaz intestinaux.

Cellules réticuloendothéliales : cellules disséminées dans l'organisme et particulièrement dans le foie (cellules de Kupffer), les lymphatiques, la moelle osseuse, la rate entre autres, organisées en réseau d'où le terme de réticulo, réticulé. Elles possèdent diverses fonctions dont la fabrication des éléments du sang, la destruction des corps considérés comme étrangers, l'immunité, etc.

Immunomodulateur : Qualifie un traitement qui stimule ou freine les réactions du système immunitaire du corps (« modulation »).

Pennatiséquées : En parlant d'une feuille pennée, dont les folioles présentent la particularité d'être dissociées totalement, jusqu'à la base.

Sclérose latérale amyotrophique : maladie de la moelle épinière qui provoque des paralysies.

Thalamiflores : Les Thalamiflores regroupe ensemble les familles de dicotylédones dialypétales dont les fleurs ont un thalamus.

Xénobiotiques : Substances possédants des propriétés toxiques, même à très faible concentration (exemple des pesticides).

Résumé

Nigella sativa L. (NS) et *Nigella damascena* L., (ND) deux plantes herbacées, ont été utilisées depuis des milliers d'années à des fins culinaires et médicales. Cette étude est réalisée dans l'objectif d'évaluer l'activité antioxydante, *in vivo* et *in vitro*, des extraits méthanoliques des graines de ces deux espèces de nigelle. Le dosage des polyphénols a révélé la richesse de ces deux plantes en ces composés, où des teneurs de 51,13 et 42,27 mg EQ/g ES sont détectées pour ND et NS respectivement. De même, l'évaluation du pouvoir piègeur des extraits vis-à-vis du DPPH confirme que l'extrait ND est plus actif par rapport à celui de NS, avec des IC₅₀ de l'ordre de 0,44 et 0,69mg/ml respectivement. Le test du pouvoir réducteur a montré des absorbances proches pour les deux types d'extraits. L'étude de l'activité antioxydante *in vivo* a révélé que l'administration journalière par voie orale de l'extrait brut de NS (500 et 800mg/kg/jour) et de ND (154,2 ml/kg/jour) pendant 21 jours, a entraîné une amélioration significative de la capacité antioxydante plasmatique vis-à-vis du radical DPPH. Enfin les résultats de cette étude montrent que les graines de NS et ND présentent un intérêt réel par leurs activités antioxydantes établies aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*.

Mots clés : *Nigella sativa* L., *Nigella damascena* L., activité antioxydante, composés phénoliques, espèces réactives oxygénées.

Abstract

Nigella sativa L. (NS) and *Nigella damascena* L. (ND), two herbs have been used for thousands of years for culinary and medicinal purposes. This study is realised in the aim to evaluate the seeds extracts antioxidant activity, *in vivo* and *in vitro*, from these species of Nigella. The polyphenols contents revealed the richness of these extracts on these compounds, where the contents are 51.13 and 42.27 mg EQ / g DE from ND and NS respectively. Similarly, the evaluation of power scavenging extracts against the DPPH confirmed that the ND extracts are more active compared that NS, with IC₅₀ of about 0.44 and 0.69mg / ml respectively. The reducing power test showed that the absorbances of both plants are near. Antioxidant activities of methanolic extracts are evaluated *in vivo* in mice, the daily oral administration of NS extracts (500 and 800 mg / kg / day) and ND (154.2 ml / kg / day) for 21 days resulted in a significant improvement in plasma antioxidant capacity against the DPPH radical. Finally, the results of this study showed that NS and ND seeds present a real interest by their antioxydante activities established as well *in vitro* that *in vivo*.

Keywords: *Nigella sativa* L., *Nigella damascena* L., antioxidant activity, phenolic compounds, reactive oxygen species.