

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الجبلاي بونعامة خميس مليانة
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana
Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département des Sciences Biologiques



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention d'un diplôme de *Master en Sciences Biologique*

Spécialité: physiologie cellulaire et physiopathologie

Thème :

Etude *in vitro* de l'activité antiarthritique
des extraits des graines de *Nigella sativa* L.

Soutenu le 01/07/2018

Présenté par

KADDOUR YAHYA

&

BENMBAREK ISLAM

Devant le jury composé de

Présidente : M^{me} OUAZIB.

Grade maitre assistant A.Univ.DBKM.

Encadreur : M^r CHEURFA M.

Grade maitre de conférence B. Univ.DBKM.

Examinatrice : M^{me} BENSEHAILA S.

Grade maitre assistante B.Univ.DBKM.

Examineur : M^r SAHRAOUI T.

Grade maitre assistante B. Univ.DBKM.

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

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

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promoteur Dr. CHEURFA MOHAMED Enseignante au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université KHEMIS MILIANA qui nous a encadrées et dirigées ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous accordé nous ont permet de réaliser ce travail.

Nous offrons nos plus sincères remerciements à l'examinatrice M^{me}. BENSEHAÏLA et M^{me} OUAZIB, pour ses précisions remarques pour corriger ce travail et pour l'assistance par des conseils objectifs et éclairés.

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à **président** M SAHRAOUI. Pour ses conseils.*

Nous remercions aussi tous les membres de la bibliothèque de Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de L'Université KHEMIS MILIANA.

Un grand merci à tous les enseignants du département des sciences de la nature et la vie de l'université KHEMIS MILIANA.

Nos vifs et sincères remerciements s'adressent tout particulièrement à notre Université de Khemis miliana qui nous a procuré une bonne formation.

YAHYA-ISLAM

Dédicace

*J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à Ma famille
BENMBAREK Et aux personnes les plus chères au monde mes chers parents :*

A mon père :

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation
et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis
pour mon éducation et ma formation.*

A ma très chère mère :

*Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de
prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder
santé, longue vie et bonheur.*

*Je dédie spécial Ma grande père et Ma grande mère et la famille BOUSMAL
qui n'ont jamais cessé de croire source d'amour et de tendresse sans elles ce succès
n'aurait jamais un le jour...*

*A ma 2ème famille des mes amis : Lakhdar, Adel, Bachir, Abdullah, Nor El
islam, Mounir, Ismail, Ahmed, Mohamed Amine, Aissa*

*A Mes amis de l'étude : Nourdine, Hassan, sofyane, mohamed salem, Mohamed,
Bilal, Fethi, Hamza, Mekkedam, Aziza, Hamida, HOUDA.*

*A mon binôme yahya qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce
travail et son famille.*

Sans oublier mes amis et a Tous ceux qui ont connus.

Islam

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A mes grands chers parents ma mère BAKHTA et mon père MAHDI
à ceux qui m'ont toujours encouragé pour que je réussisse dans mes
études, pour leur sacrifice et leur soutien tous au long de mes études.*

A mes chers frères MOHAMED, DJAMEL.

A tout la famille KADDOUR et la famille ZARBOU.

A mon binôme ISLAM BENMBAREK,

Pour mes très chers amis :

*Lazali sofyane, HASSAN HAMDANI, Raffed Noureddine, Mohamed
ali salem ali fadel salem, Mohamed Boudina, Hakim Barodi, Abdelkader
Zarar, Abd ellah Tassalit, Samai Bilal , Djeloul Tahmi, Mohamed Zarar,
Mostapha Kaddour , Kaddour Hamza, Ali Rajaa , hamza Kerrieb, Gettare
Mekkedam, Asla Aziza, Bouseta Hamida, HOUDA.*

A tous mes camarades de la promotion 2017 /2018

YAHYA

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Liste des Abréviations.

Résumé.

Sommaire

Introduction01

Chapitre I

1. Généralités sur <i>la Nigella sativa</i> L.....	03
1.1. Classification.....	03
1.2. Description botanique de la <i>Nigella sativa</i> L.....	04
a- Localisation.....	06
b- Description.....	07
1.3. Composition chimique de <i>Nigella sativa</i> L.....	07
1.4. Composition phénoliques de <i>Nigella sativa</i> L.....	08
1.5. Les effets thérapeutiques de <i>Nigella sativa</i> L.....	08
1.6. Utilisation et vertus.....	09
1.7. Propriétés pharmacologiques des graines de <i>Nigella sativa</i> L.....	09
a- Effets sur le système immunitaire.....	09
b- Effets anti-inflammatoire et analgésique.....	10
c- Activité antimicrobienne.....	11
d- Effets anticancéreux et antimutagène.....	11
e- Effets sur le système gastro-intestinal.	13
f- Effets sur le système respiratoire.....	13
g- Activité antidiabétique.....	14
1.8. Activité antioxydant <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	14

a) <i>in vitro</i>	15
b) <i>in vivo</i>	16

Chapitre II

1. Généralité sur la Polyarthrite Rhumatoïde.....	18
2. Physiologie de la Polyarthrite Rhumatoïde.....	18
2.1. Diagnostic.....	21
2.2. Evolution.....	23
2.3. Traitement.....	24
2.3.1. Les traitements chirurgicaux.....	25
2.3.2. Traitements envisageables.....	26
2.3.3. Traitements symptomatiques.....	26
3. Effets indésirables des anti inflammatoires non stéroïdiennes.....	27

Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal de <i>Nigella sativa</i> L.....	28
1.1. Les graines de la nigelle.....	28
1.2. Broyage et tamisage.....	28
1.3. Appareils et produits chimique.....	29
2. Méthode.....	30
2.1. Préparation des extraits.....	30
2.1.1 Préparation de l'extrait aqueux.....	30
2.1.2. Préparation de l'extrait hydro alcoolique.....	30
2.2. Calcul les rendements des extraits.....	30
3. Test phytochimique.....	30
3.1. Les composés azotés.....	31
3.2 Les composés polyphénoliques.....	31
3.2.1 Les tanins.....	31
3.2.2 Les Flavonoïdes.....	31

3.3. Les Composés terpéniques.....	31
3.3.1 Les saponosides.....	31
3.4. Les composées réducteurs.....	32
4-Dosage des flavonoïdes.....	32
5-détermination Activité anti arthritique in vitro.....	33
5.1. Test de BSA.....	33
5.1.1. Préparation des solutions de BSA et tamponnée de phosphate.....	33
5.1.2. Préparation des extraits avec les solutions.....	34
5.1.3. Méthode de BSA.....	34
5.2. Test de dénaturation albumine d'œuf.....	34
5.2.1. Préparation du phosphate buffer saline pH 6.3.....	34
5.2.2. Méthode.....	34
Etude statistique.....	35

Chapitre IV: Résultats et discussion

I. Screening phytochimique.....	36
I.1. Rendements d'extraction.....	36
I.2. Les analyses qualitatives.....	37
I.3. Les analyses quantitatives.....	39
II. Les analyses des tests de l'activité antiarthritique.....	40
II.1. Les analyses de la méthode de BSA.....	41
II. 2. Les analyses de la méthode de dénaturation d'albumine d'œuf.....	42
Conclusion.....	44
Références bibliographies.....	46

Annexes

Liste des figures

figure01	Les parties <i>Nigella sativa</i> L.....	05
figure02	Distribution de <i>Nigella sativa</i> L.....	06
figure03	Destruction articulaire dans la Polyarthrite Rhumatoïde	19
figure04	Les différentes phases de la physiopathogénie de la Polyarthrite Rhumatoïde.....	21
figure05	Représentation des 28 sites articulaires intervenant dans le calcul du score DAS 28.....	23
figure06	Mécanisme de déformation des doigts.....	24
figure07	matériel végétal de <i>Nigella sativa</i> L.....	28
figure08	protocole de dosage des flavonoïdes.....	33
figure09	le rendement d'extraction des extraits bruts des graines de <i>Nigella sativa</i> L...	36
figure10	courbe d'étalonnage des flavonoïdes.....	39
figure11	Les teneurs des flavonoïdes dans les extraits des graines de la <i>Nigelle</i>	40
figure12	les valeurs d'IC50 pour la capacité antiarthritique totale.....	41
figure13	les valeurs d'IC50 pour la capacité anti arthritique d'albumine d'œuf.....	42

Liste des tableaux

tableaux I	Classification botanique de <i>Nigella sativa</i> L.....	04
tableaux II	Noms communs de <i>Nigella sativa</i> L.....	06
tableaux III	la composition chimique de <i>Nigella sativa</i> L.	07
tableaux IV	Teneurs en acides phénolique de l'extrait méthanolique de <i>Nigella Sativa</i> L.....	08
tableaux V	Résultats de l'analyse phytochimique des graines de <i>Nigella sativa</i> L...	38

Liste des abréviations

DAS 28 : Score d'Activité Disease.

NS : *Nigella sativa* L.

IC50: Concentration inhibitrice de 50%.

UV : Ultra violet.

BSA: Sérum Albumine Bovine.

ND : *Nigella damascena*.

TNF: Tumor necrosis factor.

Fe²⁺: Ferrique.

Fe³⁺: Ferreux.

AC: Anti corps.

Ag: Anti gene.

HLA: Human Leucocyte Antigène.

IL : Interleukine.

LB : Lymphocyte B.

LT : Lymphocyte T.

PR : Polyarthrite Rhumatoïde.

ALCL₃ : Chlorure d'aluminium.

KCL : Potassium chloride.

Na₂Hpo₄ : tamponnée de phosphate.

KH₂PO₄ : Potassium hydrogène phosphate.

PBS : Phosphate Buffer Saline.

KI : d'iodure de potassium.

I₂ : Iode.

CPA : Cellules Présentatrices d'antigène.

AINS : Les antis inflammatoires non stéroïdiens.

LPS : Lipopolysaccharide.

Résumé

L'objectif de cette étude évaluer l'activité antiarthritique et screening phytochimique in vitro, des extraits éthanoliques et aqueux des graines de cette espèce de *nigelle*. Le dosage des flavonoïdes a montré que la teneur de l'extrait hydroalcoolique (134.7 ± 0.289 mg EAG/g) plus élevée par rapport à l'extrait aqueux (48.495 ± 0.035 mg EAG/g). De même, L'analyse phytochimique des graines de la nigelle (*Nigella sativa* L). A révélé la présence des tannins, saponines et composés réducteurs et absence des alcaloïdes. Les résultats ont montré un effet antiarthritique important des extraits aqueux et hydroalcoolique des graines de nigelle (*Nigella sativa* L), préparé par macération.

Enfin les résultats de cette étude montrent que les graines de NS présentent un intérêt réel par leurs activités anti inflammatoire établies aussi bien in vitro.

Mots clés : *Nigella sativa* L, extrait aqueux, extrait hydroalcoolique, antiarthritique.

الهدف هذه	هو تقييم	للالتهاب	الكيميائي
الايثنولية والمائية		. وأظهرت مقايسة الفلافونويد	المائية
	(134.7±0.289 mg EAG/g)		(48.495±0.035mg EAG/g)
التحليل الكيميائي		. التانينات السابونين	السكريات
لكلويديات.		المائية أظهرت	تأثير
المعدة عن طريق النقاة.			وغياب
وأخيراً، تظهر هذه		أهمية حقيقية	للالتهاب
إنشاؤها		أنشطتها	
المفتاحية:		المائية ،	للالتهاب.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the antiarthritic activity and in vitro phytochemical screening, ethanolic and aqueous extracts of the seeds of this species of *nigella*. The flavonoid assay showed that the hydroalcoholic extract (134.7 ± 0.289 mg EAG / g) content was higher for the aqueous extract (48.495 ± 0.035 mg EAG / g). Similarly, the phytochemical analysis of the seeds of nigella (*N sativa L*). Has revealed the presence of tannins, saponins and reducing compound and absence of alcaloïdes. The results showed a significant anti-arthritis effect of the aqueous extracts and hydroalcoholic seeds nigella (*Nigella sativa L*), prepared by maceration.

Finally the results of this study show that NS seeds are of real interest by their anti-inflammatory activities established both in vitro.

Key words: *Nigella Sativa L*, aqueous extract, hydroalcoholic extract, antiarthritic.

Introduction :

Depuis des milliers d'années, l'Homme a utilisé les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanago R, 2006**). Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**Amenai H, 2006**).

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs. Elles produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**Chaabi M, 2008**).

Les utilisations très vastes des plantes médicinales depuis des siècles par l'homme pour traiter les différentes pathologies courantes ont poussé les chercheurs à étudier les activités pharmacologiques des différents métabolites végétaux pour confirmer ses propriétés thérapeutiques d'une part et d'autre part pour identifier les principes actifs à l'origine de ces vertus et par conséquent l'usage de ces médicaments naturels à bon escient dans les systèmes de soins primaires. Certaines plantes peuvent constituer une source majeure de médicaments grâce à leur richesse en métabolites secondaires, ces derniers font et restent l'objet de nombreuses recherches *in vitro* comme *in vivo* notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques, les saponosides, les alcaloïdes et les huiles essentielles. (**Guignard J-L et Henry M, 1985**).

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées par le médecin traditionnel dont moins une partie possède propriété médicamenteuse.

Des remèdes traditionnels à base des plantes médicinales ont été longtemps employés, sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques ni connaître les molécules responsables de l'action pharmacologique (**Hambaba P et al., 2012**).

En effet, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime en 2002 que, pour se soigner, 80% de la population recourt toujours à la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes. Ces espèces végétales de grande utilité pour la santé des populations méritent d'être étudiées afin de justifier et valider scientifiquement leur usage pour une meilleure utilisation (**Ennadir J et al., 2014**).

L'objectif de notre travail se base sur l'efficacité des extraits de la *Nigella sativa* L sur les maladies rhumatismales par déterminer le screening phytochimique et différent test de l'activité anti arthritique.

1. Généralités sur *la Nigella sativa* L

La nigelle a été trouvée sur la tombe de Toutankhamon, elle était considérée par les Egyptien de l'antiquité comme une panacée. Chez les Grecs anciens, *la nigelle* était Considérée comme un remède précieux dans le traitement des affections hépatiques et digestives. Pour Dioscoride (médecin Grec du premier siècle et auteur de *Materai Medica*), les graines de *nigelle* étaient utilisées pour traiter les maux de tête, les algies dentaires, la congestion nasale et comme diurétique. Ces graines ont été aussi utilisées pour favoriser les menstruations, combattre les vers intestinaux et comme galactagogues (**Ghedira K et Le Jeune R, 2010**).

La nigelle fait partie aussi de la médecine traditionnelle prophétique, Il a été plusieurs savants musulmans s'intéressèrent à cette graine (**Meziti A, 2009**).

C'est une herbe originaire du moyen orient, de l'Europe centrale et de l'ouest de l'Asie, elle est maintenant cultivée dans plusieurs régions du monde surtout dans le bassin méditerranéen et en Inde (**Meziti A, 2009**).

La Nigella dérive du mot latin *Nigellus* qui signifie noirâtre, car les graines sont d'un noir intense, caractéristique des graines de *nigelle*. Elles sont communément connues sous le nom de cumin noire, black seed en Anglais, Habbat el baraka ou encore El habba sauda dans les pays arabes, Sinoudj en Algérie (**Ghedira K, 2006**).

1.1 Classification

La nigelle ou *Nigella* L. est un petit genre de plantes herbacées dans la famille des Renonculacées, comprend environ 14 espèces. Certaines d'entre elles étant d'une importance économique, elles sont utilisées comme épices, plantes médicinales et plantes ornementales *Nigella arvensis* L, *Nigella damascena* L, *Nigella hispanica* L, *Nigella sativa* L. et *Nigella orientalis* L. sont les espèces les plus répondues du genre *Nigella* (**Kokoska L, 2011**).

Tableau I : Classification botanique de *la Nigella sativa* L (Ozenda P, 2000).

Embranchement	Spermaphytes
Sous-Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-Classe	Dialypétales
Série	Thalamiflore
Ordre	Ranales
Famille	Renonclacées
Tribu	Helleborées
Genre	<i>Nigella</i>

1.2. Description botanique de *la Nigella sativa* L

Les différentes espèces de nigelle ont des caractéristiques communes :

- Elles sont des plantes annuelles avec des feuilles très découpées, plumeuses, leurs segments plus ou moins linéaires.
- Les fleurs hermaphrodites sont pentamères et tétra cycliques avec ostentatoire blanche à sépale bleuâtre et jaunâtre persistant pendant un temps sur la maturation des fruits. Les pétales nectarifères (feuilles de miel) sont de taille réduite, et une lèvre d'échelle comme supérieure agissant comme un «couvercle» de protection (Hegi G, 1975 ; Zohary M , 1983).

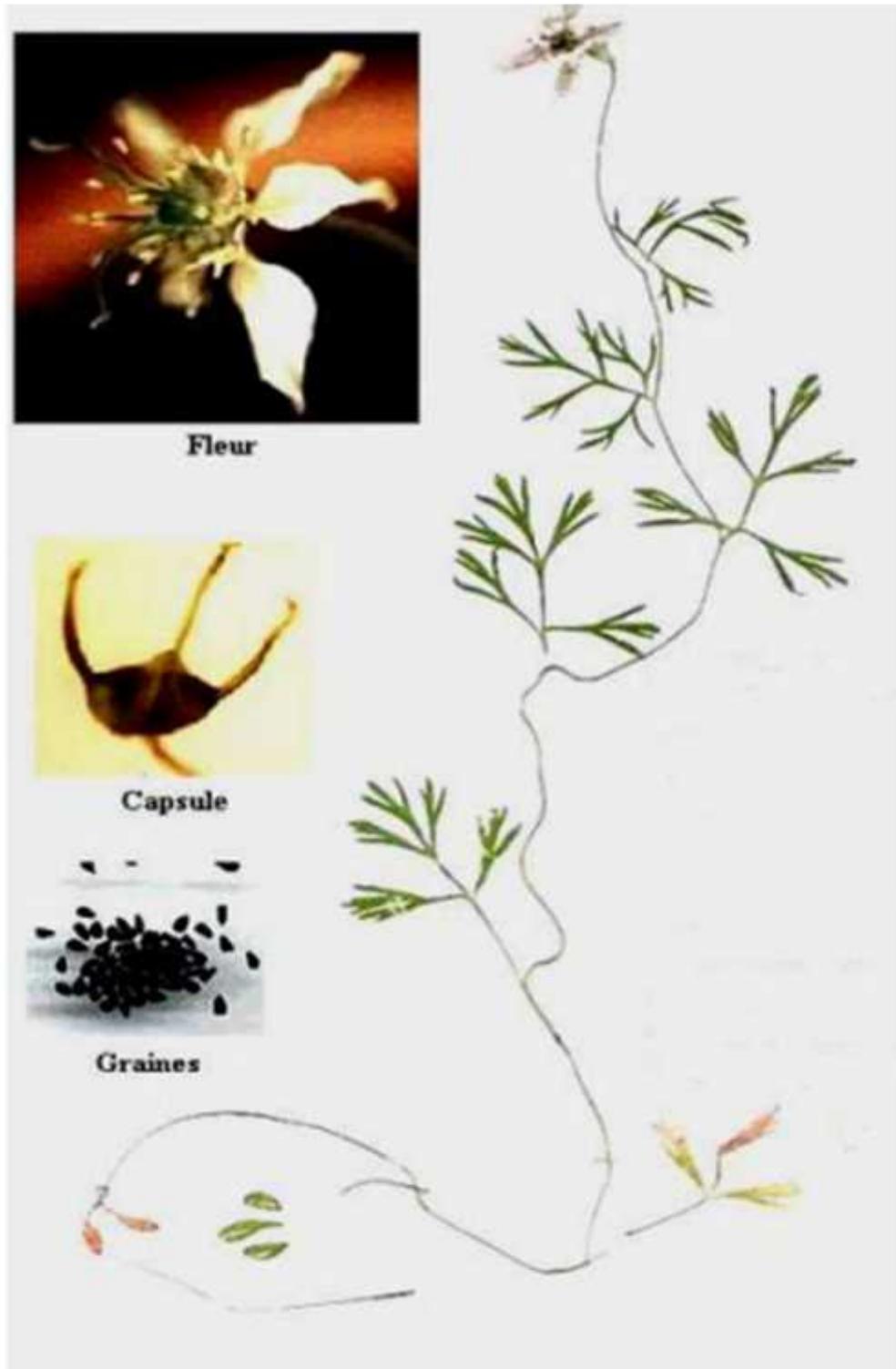


Figure 01 : Les parties de *Nigella sativa* L (Guignard J-L, 2001).

Elle possède plusieurs appellations vernaculaires, dont celles indiquées dans le tableau ci-dessous :

Tableau II : Noms communs de *Nigella sativa* L. (Kokoska L , 2011).

Région	Nom commun
Anglaise	Black cumin, small fennel, fennel flower.
Française	Cumin noir, nigelle cultivée, toute-épice.
Arabe	Habbet-el baraka, habba-tu sawda, Kamun-aswad, Shunez, gesheh.
Marocaine	Sanuj.
Egyptienne	Habatul barakah.
Iranienne	Siah daneh.
Turquoise	Corekotu
Indonésienne	Jinten hitam
Indienne	Mangral, kala dana, kalaunji.

a-Localisation

-*La nigelle* est originaire de l'Asie occidentale ; du moyen orient et de l'inde (mokkedem A, 2004 et teuscheret E al., 2005).

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



Figure 02 : distribution mondiale de *Nigella sativa* L (zelmati M, 1990).

b-Description

Plante annuelle à tige dressé ramifiée ; à feuilles dentées ; à fleur bleu-gris assez petite de 2 à 2,5 cm de diamètre, manquante d'involucre sous la fleur et a gousse dentelées (**Bonnier G et Douin R, 1993 ; Iserin P, 2001**).

La tige est fortement ramifiée, sub cylindrique, nervuré et creuse quand elle est sèche. De couleur vert clair à vert foncé, et les feuille est plumeuse, divisée en lobes étroits, elle est lancéolée à linéaires et présente des onglets nectarifères. Les feuilles inférieures sont petites et pétaloïdes et les supérieures sont longues. Et les fleurs sont solitaires, axillaires et terminales. Elles sont bisexuées, radiales, très riches en nectar. Elles sont petites à pétales blanchâtres et sépales pétaloïdes de couleur bleu clair et présentent de nombreuses étamines insérées sur le réceptacle. Le fruit est une capsule formée de follicules soudés, s'ouvrant au sommet par une fente interne. La graine est de couleur noirâtre, avec un tégument assez dure ornementé de stries. La graine faisant en moyenne 2-3 mm dans le sens de la longueur, elle a une base large puis se rétrécit en forme triangulaire anguleuse. En l'écrasant entre les doigts, elle dégage une odeur de camphre. (**Bonnier G, 1990 ; Ghedira K, 2006 ; Kokoska L, 2011**).

1.3. Composition chimique de *Nigella sativa* L

La graine de *Nigelle* contient plus de cent composants dont beaucoup restant à découvrir. Les graines de *nigelle* sont une bonne source de protéines et d'huile. Les valeurs rapportées par (**Abdel-Al E et Atta M, 1993**) (**Atta M, 2003**) ; et (**Cheikh R et al., 2006**), montrent que le composé majeur de la graine de *nigelle* sont les lipides avec un taux qui varie entre 28,48 et 40,35% d'une région géographique à une autre.

Tableau III : la composition chimique de *Nigella sativa* L (**Nergiz C et Otles K, 1993 ; Takruri H et Dameh M, 1998 ; Atta M, 2003**).

Constituants	Quantité dans 1 Kg
Eau	38 -78g
Protéines	202-216g
Lipides	320-406g
Glucides	248-374g
Fibres	66-84g
Sels minéraux	37-45g

1.4. Composition phénoliques de *Nigella sativa* L

L'évaluation de ces graines a été faite largement sur les composants majeurs qui sont les alcaloïdes, terpène et quelques flavonoïde (Doepke V et Fritsch A, 1970 ; Tillequin F et al., 1976 ; Lebre´ton P, 1986). En effet, quatorze composés phénoliques (acides phénoliques) ont été identifiés avec succès par (Bourgou S et al., 2008) à partir des graines de cette plante : acide gallique, P-acide hydroxybenzoïque, acide chlorogénique, acide vanillique, -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.

Tableau IV : Teneurs en acides phénoliques de l'extrait méthanolique de *Nigella sativa* L. (Bourgou S 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 -coumarique	0.360
Acide ferulique	0.180
Acide cyingique	0.125

1.5. Les effets thérapeutiques de *Nigella sativa* L

Durant les 20 dernières années, plusieurs travaux ont porté sur l'étude de *Nigella sativa* L., notamment sur les effets dus aux extraits de la graine de cette espèce ainsi qu'aux principaux constituants (notamment la thymoquinone) sur divers systèmes *in vivo* et *in vitro*.

L'huile des graines de cette espèce a été décrite comme ayant une activité anti tumorale, Antioxydant, antibactérienne et un effet stimulant du système immunitaire (Ghedira K, 2010).

Cette plante est connue pour avoir de nombreuses propriétés médicamenteuses dans la Médecine traditionnelle. Cette plante a été largement étudiée et de nombreuses propriétés Biologiques favorables ont été signalées comme antioxydant, antimutagène, hépato protecteurs, anticorrosion et les effets anti-inflammatoires (Talbi H et al., 2015).

1.6. Utilisation et vertus

En Algérie, le pain et les produits boulangers sont aromatisés avec *la nigelle* et au sud, principalement dans la région d'Adrar, elle constitue l'épice principale dans la préparation de soupes. Actuellement, elle est employée en médecine traditionnelle comme emménagogue cholagogue, carminatif, vermifuge, diurétique, stimulant de la sécrétion du lait, décontractant des muscles lisses (Zouaghi N, 1985 ; Mokkedem A, 2004) et grâce à son arôme citronné et légèrement piquant, elle reste présente dans de nombreuses cuisines, comme épice, et arôme pour les produits boulangers (Anonyme C, 2005).

La graine de *nigelle* possède un très large spectre d'utilisation en médecine traditionnelle récemment prouvé par des études pharmacologiques et biologique.

1.7. Propriétés pharmacologiques des graines de *Nigella sativa* L

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

a) Effets sur le système immunitaire

Les graines de *Nigella sativa* présentent *in vitro* des propriétés immunopotentialisatrices des lymphocytes T humains (EL-Kadi A et al., 1987). Confirmées par (Haq A et al., 1995), qui ont montré que les graines activent la sécrétion d'IL-3 et augmentent la production d'IL-1 par les lymphocytes T, ce qui indique un effet stimulateur sur les macrophages, soit direct ou via IL-1 .

Des études ultérieures conduites par les mêmes auteurs (Haq A et al., 1995) ont montré que les protéines isolées de la graine entière sont responsables d'effets stimulants sur la production de cytokine (TNF- α) ainsi que la prolifération des lymphocytes en culture. (Salem et Hussain, 2000) ont rapporté que *Nigella sativa* stimule également la production de l'INF- γ et la prolifération des macrophages et des lymphocytes T 4 *in vivo*. Ces

résultats sont en concordance avec les travaux de **(Swamy S et Tan B, 2000)**, qui ont montré, qu'en présence de doses optimales de mitogènes, l'extrait d'acétate d'éthyle possède un effet cytotoxique très important sur différentes cellules cancéreuses qui est accompagné d'une potentialisation significative de la réponse immune, mais dont le mécanisme d'action n'est pas encore élucidé. D'autre part, la plupart des sujets qui ont été traités par l'huile de *Nigella sativa* L pendant quatre semaines ont montré une augmentation de 55% des cellules CD4 et CD8, et 30% des cellules naturel killer (NK) **(Salem M, 2005)**.

Nigella sativa L a été traditionnellement utilisée dans le traitement des maladies allergiques. Cette action ne fait pas intervenir les cellules LTh1 et LTh2 en réponse à un stimuli allergique **(Büyükoztürk S et al., 2005)**. D'autres voies peuvent être impliquées comme l'inhibition de la libération d'histamine des mastocytes activés par diminution du taux du calcium intracellulaire et inhibition de la protéine kinase C **(Chakravarty N, 1993)**.

b) Effets anti-inflammatoire et analgésique

Plusieurs auteurs ont étudié l'éventuelle activité analgésique et anti-inflammatoire d'extraits ou de composés purs issus de *Nigella sativa* L. **(Khanna T et al., 1993)** ont montré que l'huile fixe de *Nigella sativa* possède une importante action anti nociceptive qui est due à la présence d'un principe opioïde. Cette action est antagonisée par la naloxone. Des études plus approfondies ont démontré que l'action anti nociceptive peut être également engendrée par la thymoquinone aussi bien que l'huile fixe par activation indirecte des récepteurs super spinaux μ et **(Abdel-Fattah A et al., 2000 ; Ali B et Blunden G, 2003)**.

(Ghannadi A et al., 2005) ont montré que les polyphénols de *Nigella sativa* disposent de propriétés anti-inflammatoire chez le rat et la souris dans le test de l'œdème de la pâte induit par le carragénane, et montre des propriétés analgésiques dans le test de la fomaline et de l'acide acétique. Le mécanisme par lequel l'huile fixe de *Nigella sativa* et la thymoquinone exercent leurs effets anti-inflammatoires a été étudié, la thymoquinone s'est avérée être un puissant inhibiteur de la synthèse des eicosanoïdes notamment la thromboxane B2 et leucotriène B4 par l'inhibition respective des cyclooxygénase et lipoxygénase. Cependant, l'activité de l'huile fixe sur ces deux enzymes est plus importante que la thymoquinone elle-même ; l'activité anti-inflammatoire n'est pas donc entièrement due à la présence de la thymoquinone ; des acides gras insaturés de type C 20 :2 semblent être impliqués **(Houghton P et al., 1995 ; Gilani A et al., 2004)**.

c) Activité antimicrobienne

Les différents extraits des graines de *Nigella sativa* présentent un large spectre d'inhibition vis-à-vis de nombreuses souches bactériennes. L'huile essentielle même diluée à 1%, la dithymoquinone ainsi que l'extrait méthanolique exercent une importante activité antimicrobienne sur des germes Gram positif et Gram négatif, (**Agrawal R et al., 1979 ; Aljabre S et al., 2005**). L'huile de la Nigelle possède également un pouvoir inhibiteur supérieur à celui de la gentamicine sur une vingtaine de souches de *Listeria monocytogenes* (**Nair M et al., 2005**). Différents extraits bruts issus de la graine ont été testés vis-à-vis de germes anti bio résistant (16 Gram négatifs et 6 Gram positifs), les alcaloïdes totaux et le décocté se sont révélés être les extraits les plus actifs, notamment à l'égard des bactéries à gramme positif (**Morsi N, 2000**).

De même, L'extrait méthanolique et hexanique possèdent aussi un effet inhibiteur très considérable sur *Candida albicans*, *Staphylococcus* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Mashhadian N et Rakhshandeh H, 2005**).

L'huile fixe Présente également une excellente activité antifongique, notamment sur *Aspergillus Niger* (**Agrawal R et al., 1979**). Par ailleurs, l'extrait à l'éther et la thymoquinone exercent une activité inhibitrice sur huit espèces de dermatophytes (**Aljabre S et al., 2005**).

En plus des activités antibactériennes et antifongiques, l'huile de *Nigella sativa* possède aussi un effet antiviral vis-à-vis de virus de l'herpès : cytomégalovirus murin (MCMV) (**Salem M, 2005**), des propriétés anti-cestodales et anti-nématiques comparables à celles de la pipérazine (Antiparasitaire) (**Agrawal R et al., 1979**).

d) Effets anticancéreux et antimutagène

L'activité anti-tumorale des extraits ou de composés isolés de *Nigella sativa* a été testée par plusieurs auteurs. L'extrait méthanolique brut préparé à partir des graines de *Nigella sativa* présente une importante action cytotoxique sur le carcinome ascitique d'Ehrlich et sur le lymphome ascitique de Dalton tout en exerçant une cytotoxicité minimale vis-à-vis des lymphocytes normaux (**Musa D et al., 2004 ; Ghedira K, 2006**). L'extrait décocté des graines de *Nigella sativa* exerce une forte activité cytotoxique sur les cellules hépatiques cancéreuses, notamment sur la synthèse d'ADN (**Thabrew M et al., 2005**).

(**Iddamaldeniya S et al., 2003**) ont montré que Le traitement des souris atteintes d'un cancer hépatique initié par diéthylnitrosamine (DEN), avec le décocté des graines de *Nigella sativa* pendant 10 semaines, réduit significativement le nombre de cellules atteinte/cm², ce qui indique que cet extrait a un effet protecteur contre ces cancers hépatiques induits par le DEN. Différents extraits de *Nigella sativa* ; l'huile essentielle, L'extrait d'acétate éthyle et celui du butanol, ont été testés sur différents tissus cancéreux (murine mastocytoma, kidney carcinoma, sheep heart carcinoma). L'huile essentielle a montré un effet cytotoxique le plus important sur les trois lignées cellulaires suivi de l'extrait d'acétate éthyle, alors que celui du butanol présente un effet moindre (**Ait-Mbarek L et al., 2007**).

D'autre part, L'huile essentielle de *Nigella sativa* est capable d'inhiber la carcinogénèse du colon au stade post initiation chez la souris traitée par voie orale sans effets secondaires, cette inhibition est associée à la suppression de la prolifération cellulaire dans la muqueuse du colon (**Salim E et Fukushima S, 2003**).

In vitro, la thymoquinone et la dithymoquinone sont très cytotoxiques contre différentes lignées des cellules tumorales humaines : adénocarcinome pancréatique, sarcome utérine et la leucémie. Ils provoquent l'apoptose en bloquant le cycle cellulaire en phase G1, en augmentant le temps d'expression de p53 et en inhibant la protéine anti-apoptique Bcl-2 en même temps (**Salem M, 2005**).

Les graines de *Nigella sativa* ou ses constituants présentent une action préventive des cancers et/ou réductrice de la cytotoxicité des médicaments antinéoplasiques usuels. En effet, la thymoquinone exerce *in vitro* et *in vivo* un effet inhibiteur de la carcinogénèse de l'estomac et du fibrosarcome induit par 20-méthylcholanthrène chez la souris (**Badary O et al., 1999 ; Badary O et Gamal D , 2001**).

Par ailleurs, (**Kumara S et Huat B, 2001**) ont montré que l'-hederine exerce d'importantes propriétés anti tumorales chez la souris présentant un sarcome du poumon de Lewis ou la leucémie murine P388. De même, l'huile des graines de *Nigella sativa* réduit le potentiel fibrinolytique des cellules tumorales liées à leur phénotype de malignité. Cette action conduit à l'inhibition des invasions tumorales locales et de la métastase (**Awad E, 2005**).

e) Effets sur le système gastro-intestinal

Les graines de *Nigella sativa* L sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle Pour le traitement des désordres gastro-intestinaux, 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 K, 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 (**EI-Dakhakhny M et al., 2000**).

Cette huile ainsi que la thymoquinone protégeant contre les lésions gastriques, induites par le processus d'ischémie-réperfusion, grâce à leur pouvoir anti-radicalaire (**El-Abhar T et al., 2003**). L'extrait alcoolique des graines de *Nigella sativa* présente également une activité anti-ulcéreuse qui a été attribuée aux flavonoïdes qu'il contient (**Raj Kapoor B et al., 2002**).

De même, l'extrait méthanolique montre un effet spasmolytique ce qui confirme l'utilisation traditionnelle de la Nigelle dans le traitement des diarrhées (**Gilani A et al., 2004**).

f) Effets sur le système respiratoire

Les propriétés anti-tussives et antiasthmatiques des graines de *Nigella sativa* sont bien reconnues depuis des siècles, faisant d'elle une des plantes les plus recommandées pour le traitement des maladies respiratoire, cette activité de *Nigella sativa* a été étudiée par un grand nombre de chercheurs.

En 1993, **El Tahir K et al** ont prouvé que l'administration intraveineuse des huiles essentielles de *Nigella sativa* est responsable d'une augmentation dose dépendante du quotidien respiratoire et de la pression intra trachéal chez le cobaye. (**Gilani A et al., 2001**) ont montré que l'extrait brut méthanolique des graines de *Nigella sativa* a un effet spasmolytique et broncho-dilatateur avec implication probable de bloqueurs des canaux calciques. Cette activité est concentrée dans la fraction organique qui est dix fois supérieure à celle de l'extrait brut. Le traitement des cobayes préalablement exposés à des aérosols de l'acide citrique par différents extraits de *Nigella sativa* (extrait aqueux, extrait macéré et extrait décocté) montre un effet antitussif très important comparable à celui de la codéine (**Boskabady M et al., 2004**). Les investigations d'autres chercheurs ont permis de

prouver que le *Nigellone* (polythymoquinone) est un agent protecteur efficace contre l'asthme et la bronchite, en inhibant efficacement la libération de L'histamine (**Gilani A et al., 2004**).

L'action des graines de *Nigella sativa* sur le système respiratoire est probablement la résultante de plusieurs effets ; cholinergiques (**Boskabady M et Shahabi N, 1997**), inhibition des récepteurs H1 de l'histamine (**Boskabady M et Shiravi N, 2000**) et antagonisme du calcium.

g) Activité antidiabétique

Les effets de *Nigella sativa* sur certaines complications du diabète expérimental induit chez les animaux ont fait l'objet de nombreux travaux, (**Al-Hader A et al., 1993**) rapportent que l'huile essentielle de la graine administrée par voie intra péritonéale (à raison de 50 mg/kg) abaisse de façon significative (de 15 à 23 %) la glycémie à jeun chez les animaux normo et hyper glycémiques.

L'insulinémie n'ayant pas été affectée par les traitements. L'effet hypoglycémiant observé se manifeste selon un mécanisme non encore identifié n'impliquant pas l'insuline (**Hawsawi Z et al., 2001 ; El-Dakhakhny M et al., 2002**). D'autres auteurs ont mis en évidence un effet hypoglycémiant via l'oxyde nitrique de la thymoquinone chez l'animal rendu diabétique par la streptozotocine (**El-mahmoudy A et al., 2005**).

Le traitement des rats avec l'extrait de *Nigella sativa* seul ou combiné avec les hormones thyroïdiennes humaines a montré une augmentation de la production d'insuline par les cellules du pancréas (**Altan et al., 2007**). Les travaux menés par (**Houcher et al., 2007**) sont en concordance avec les études antérieures, ils ont montré que le traitement des rats diabétiques avec l'extrait brut et l'huile commerciale provoque une réduction importante de la glycémie de 58.09 et 73.27 %, respectivement. Le mécanisme d'action impliqué n'est pas relié à l'inhibition de l'absorption intestinale du glucose ni à la stimulation de l'insulinosecrétion, mais il est probablement dû à l'inhibition des enzymes de la néoglucogenèse hépatique.

1.8. Activité antioxydant *in vitro* et *in vivo*

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

a) *in vitro* :

L'huile essentielle de *Nigella sativa*, ainsi que ses fractions, ont été testées pour leur activité anti-oxydante par une évaluation rapide des anti-oxydants en utilisant deux méthodes de CCM de criblage. La thymoquinone, le carvacrol, le t-anthenol, et le 4- terpineol ont montré une propriété scavenger des radicaux libres remarquable. Cette propriété anti oxydante a été confirmée par d'autres tests [Essai du DPPH (diphenyl-1-picrylhydrazyl), peroxydation lipidique non enzymatique et l'essai du désoxyribose] (**Burits M et Bucar F, 2000**).

L'huile fixe et ses fractions (lipides neutres, glycolipides et phospholipide) ont montré une activité anti-oxydante vis-à-vis des deux radicaux libres stables (DPPH et le radical glavinoxyl). Cette activité anti-oxydante est corrélée avec la teneur en acides gras polyinsaturés, en composés insaponifiables et en phospholipides, de même que la valeur peroxyde initiale de l'huile (**Ramadan M et Mörsel J, 2003**).

L'huile fixe de *Nigella sativa* ainsi que la thymoquinone (un des composé majoritaire de l'huile essentielle) inhibent la peroxydation lipidique non enzymatique dans les liposomes (**Houghton P et al., 1995**).

A côté de l'huile, qui a été largement étudiée pour ses propriétés anti-oxydantes, les extraits éthanolique et aqueux des graines de *Nigella sativa* délipidées ont présenté une activité anti-oxydante importante, comparable à celle du TBHQ (tert-butylhydroquinone) (**Atta M et Imaizumi L, 1998**). (**Thippeswamy N et Akhilender N, 2005**) ont investigué les propriétés anti-oxydantes de trois variétés de cumin dont *Nigella sativa*.

L'extrait aqueux et méthanolique de ses graines ont montré une activité anti-oxydante dans trois systèmes ; effet scavenger du radical DPPH, effet scavenger des hydroperoxydes lipidiques et inhibition de la peroxydation lipidique lipooxygénase dépendante, inhibition de la peroxydation lipidique non enzymatique au niveau des microsomes hépatiques.

La pré incubation des macrophages péritonéales avec l'extrait aqueux ou les fractions décoctées des graines de *Nigella sativa* cause une diminution dose dépendante de la production du NO après activation par les LPS (Lipopolysaccharide) *d'E. Coli* (**Mahmood M et al., 2003**).

La thymoquinone induit une protection significative des hépatocytes en culture contre la toxicité induite par le tert-Butyl hydro peroxide (**Daba M et Abdel-Rahman M, 1998**). De plus, la thymoquinone réduit la production du nitrite (un paramètre de la synthèse du NO) et diminue l'expression des gènes ainsi que la biosynthèse de la iNOS (nitrique oxyde Synthase inductible) dans le surnageant des macrophages stimulés par les LPS sans affecter la viabilité cellulaire (**El-Mahmoudy A et al., 2002**). La thymoquinone montre un effet scavenger de l'anion superoxyde généré photochimiquement, biochimiquement, ou suite à une stimulation des neutrophiles par les ionophores calciques (**Nagi M et Mansour M, 2000**).

b) *in vivo* :

L'administration de l'huile de *Nigella sativa* et de la thymoquinone chez des rats protège contre l'hyperhomocystéinémie induite par la méthionine en bloquant l'accumulation de l'homocystéine, l'une des causes de l'état du stress oxydant, conduisant à la protection contre la peroxydation lipidique et les changements du statut oxydatif (**El-Saleh S et al., 2004**).

Ainsi, une amélioration de l'activité du système anti-oxydant et une protection contre la peroxydation des lipides et l'endommagement hépatique ont été observés chez des lapins avec diabète mellitus induit par l'alloxane, après traitement par l'extrait aqueux des graines de *Nigella sativa* (**Meral I et al., 2001**). Les investigations d'autres chercheurs ont prouvé que le prétraitement des rats exposés à des radiations ionisantes par l'huile essentielle de *Nigella sativa* provoque une réduction significative des taux des anti-oxydants non enzymatiques (acide ascorbique, rétinol, GSH) (**Cemek M et al., 2006**).

Par ailleurs, le traitement des rats soumis à un régime alimentaire contaminé par l'aflatoxine, avec l'huile de *Nigella sativa* entraîne une protection importante contre l'hépatonephrotoxicité et les endommagements oxydatifs (réduction des taux de la GPx, la SOD, augmentation de la peroxydation lipidique et des altérations de l'ADN) induits durant l'aflatoxicose. Cet effet protecteur de l'huile de *Nigella sativa* est probablement attribué à leur activité radicale scavenger (**Abdel-Wahhab M et Aly S, 2005**).

L'effet de *Nigella sativa* sur quelques complications oxydatives du diabète expérimentalement induit par l'alloxane chez les lapins a été largement investigué par (**Meral I et al., 2001**) qui ont étudié l'influence de l'extrait aqueux de *Nigella sativa* sur les

peroxydes lipidiques, les anti-oxydants (glutathion et ceruloplasmine) et le glucose sérique aussi bien que sur l'histologie du foie et du pancréas chez les lapins diabétiques .

Ces chercheurs ont trouvé que le traitement pendant deux mois par l'extrait de *Nigella sativa* réduit significativement les concentrations élevées du glucose et des peroxydes lipidiques, améliore la défense anti-oxydante, par augmentation du taux des anti-oxydants, et protégé contre l'endommagement hépatique induit par la peroxydation lipidique.

En fait, l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité sont associées à des altérations du taux et de l'activité de certains médiateurs comme l'alanine amino transferase, la phosphatase alcaline, les peroxydes lipidiques et le système anti-oxydant enzymatique incluant le GSH et la SOD, Les effets anti-oxydants de *Nigella sativa* sont confirmés en utilisant différent model murin de l'hépto-néphrotoxicité induite par le tert-butylhydroperoxide (t-BHP), tétrachlorure de carbone (CCl₄), doxorubicin , gentamicine, méthionine, bromate de potassium (KBrO₃), cisplatine ou l'infection par *Schistosoma mansoni* (**Salem M, 2005**).

1. Généralité sur la Polyarthrite Rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire de l'ensemble du tissu conjonctif à prédominance synoviale. Il s'agit d'une part d'une maladie rhumatismale inflammatoire entraînant des déformations et des destructions articulaires, et d'autre part d'une maladie systémique pouvant engager le pronostic vital. C'est le rhumatisme inflammatoire le plus grave et le plus fréquent (0,5 à 1,1% de la population mondiale (**Sany J, 2003**)).

Elle représente de ce fait un véritable problème de santé publique en termes de coût et de morbi-mortalité.

2. Physiologie de la Polyarthrite Rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques. Comme de nombreuses maladies auto-immunes, il s'agit d'une affection multifactorielle relevant de facteurs psychologiques, endocriniens, environnementaux, génétiques et immunologiques. Les facteurs génétiques ne représentent que 30% des facteurs favorisant la PR. C'est à dire l'importance des facteurs environnementaux qui expliquent peut-être les différences de prévalence de la PR selon les pays (**Combe B; Cantagrel A ; Goupille P ; Bozonnat M ; Sibilia J ; Eliaou J et al., 2003**)).

La polyarthrite rhumatoïde touche entre 0,3 et 1% de la population française et survient le plus souvent Entre 40 et 50 ans. Cette maladie à des conséquences fonctionnelles importantes secondaires aux destructions articulaires. Elle est également responsable d'une mortalité accrue, principalement d'origine cardiovasculaire, dont l'inflammation chronique est la cause principale. Malgré de considérables progrès dans la compréhension de la physiopathologie de cette maladie, son origine reste à ce jour inconnu.

La physiopathologie de la PR, se caractérise par 3 phases (**Benhamou A et Fautrel R, 2009**):

- la phase de déclenchement.
- la phase d'inflammation de la membrane synoviale.
- et la phase de destruction articulaire (figure 1).

Plusieurs facteurs interviennent dans **la phase de déclenchement** :

- des facteurs hormonaux, comme le suggère l'existence d'une sex-ratio de 4 femmes pour 1 homme.
- un terrain génétique prédisposé avec 2 facteurs connus actuellement : «l'épitope partagé », une séquence conservée d'acides aminés se trouvant sur le site de reconnaissance antigénique des molécules HLA de classe II, codées par les allèles HLA- DRB1*01 et HLA-DRB1*04, et le gène PTPN22 codant pour une tyrosine phosphatase impliquée dans la régulation des lymphocytes B et T.
- le troisième élément déclencheur se trouve sans doute dans **l'environnement**, probablement sous forme d'agents infectieux, bien qu'aucun n'ait été identifié de façon formelle. Le déclenchement de la PR pourrait ainsi faire intervenir l'immunité innée et/ou acquise (**Benhamou A et Fautrel R, 2009**).

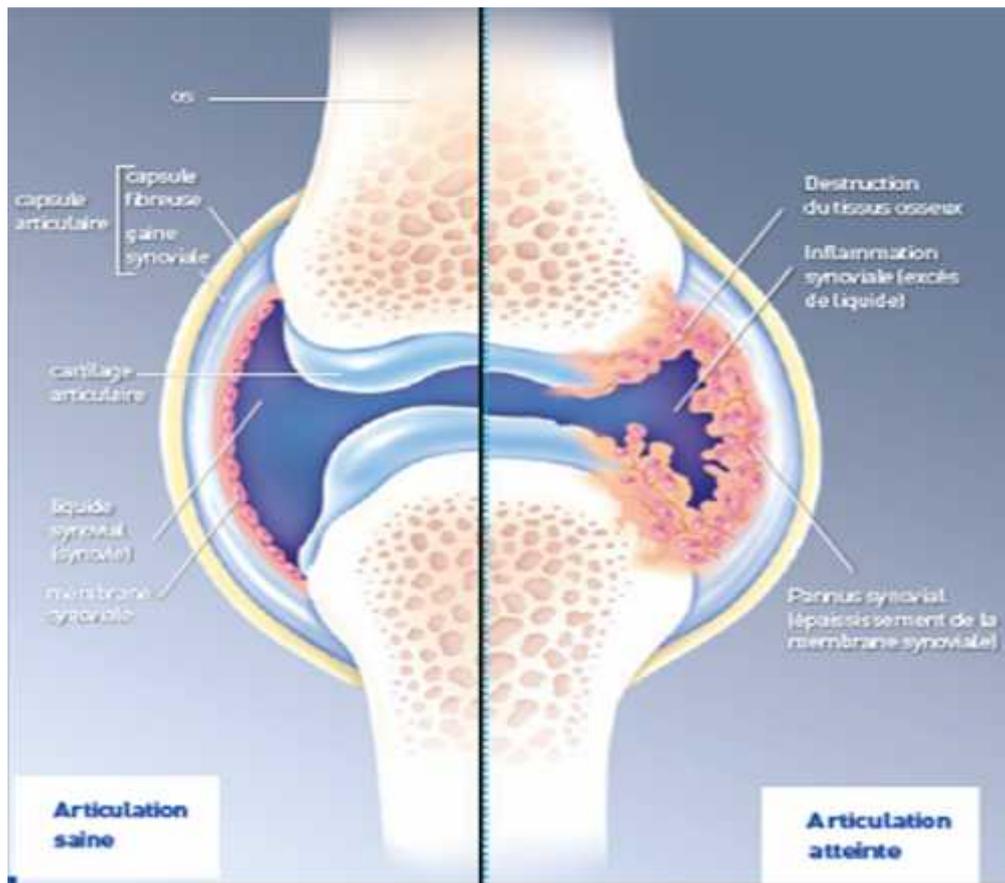


Figure 03 : destruction articulaire dans la PR **Extrait de la brochure 2010.**

A cette phase de déclenchement succède **la phase d'inflammation** de la membrane synoviale (figure 03). La synoviale membrane tapissant l'articulation (figure01), est une structure habituellement mince. Dans la polyarthrite rhumatoïde, la synoviale est infiltrée par des cellules, principalement des lymphocytes T CD4, des lymphocytes B et des macrophages, qui s'organisent en agrégats lymphoïdes voire en centres germinatifs dont la structure rappelle celle d'un ganglion. Une néoangiogenèse se développe progressivement. De nombreux acteurs sont impliqués dans l'inflammation de la synoviale: des cellules (cellules présentatrices d'antigène ou CPA) ; lymphocytes, synoviocytes de type macrophage ou de type fibroblastique), des acteurs intercellulaires (cytokines dont l'interleukine-1 et le TNF sont les clés dans la PR) et des acteurs intracellulaires, à savoir les voies de signalisation activée par la fixation des cytokines aux récepteurs membranaires, et responsables in fine d'une modification de la synthèse protéique cellulaire.

Enfin, la phase de destruction ostéo-articulaire (figure 01) apparaît comme la résultante des phases précédentes. Cette destruction est la conséquence de la prolifération pseudo tumorale de la synoviale et de l'action des cytokines. L'IL1 et le TNF participent induisant non seulement la synthèse de facteurs de croissance nécessaires à la prolifération de la synoviale, mais aussi la production par les synoviocytes de métallo protéases, cathepsines et collagénases responsables de la dégradation des principaux composants du cartilage.

Puis, ces différentes molécules (enzymes, cytokines) produites par les macrophages, synoviocytes fibroblastiques, et lymphocytes Th1, activent les ostéoclastes provoquant la classique érosion osseuse, caractéristique de la PR. Des données récentes suggèrent l'implication du système RANK/RANKL dans la résorption osseuse sous-chondrale des patients atteints de PR.

La compréhension des mécanismes physio pathogéniques a ainsi abouti à l'élaboration de pistes pour rechercher les cibles permettant, sinon d'enrayer l'apparition de la maladie, au moins d'en limiter les conséquences (**Benhamou A et Fautrel R, 2009**).

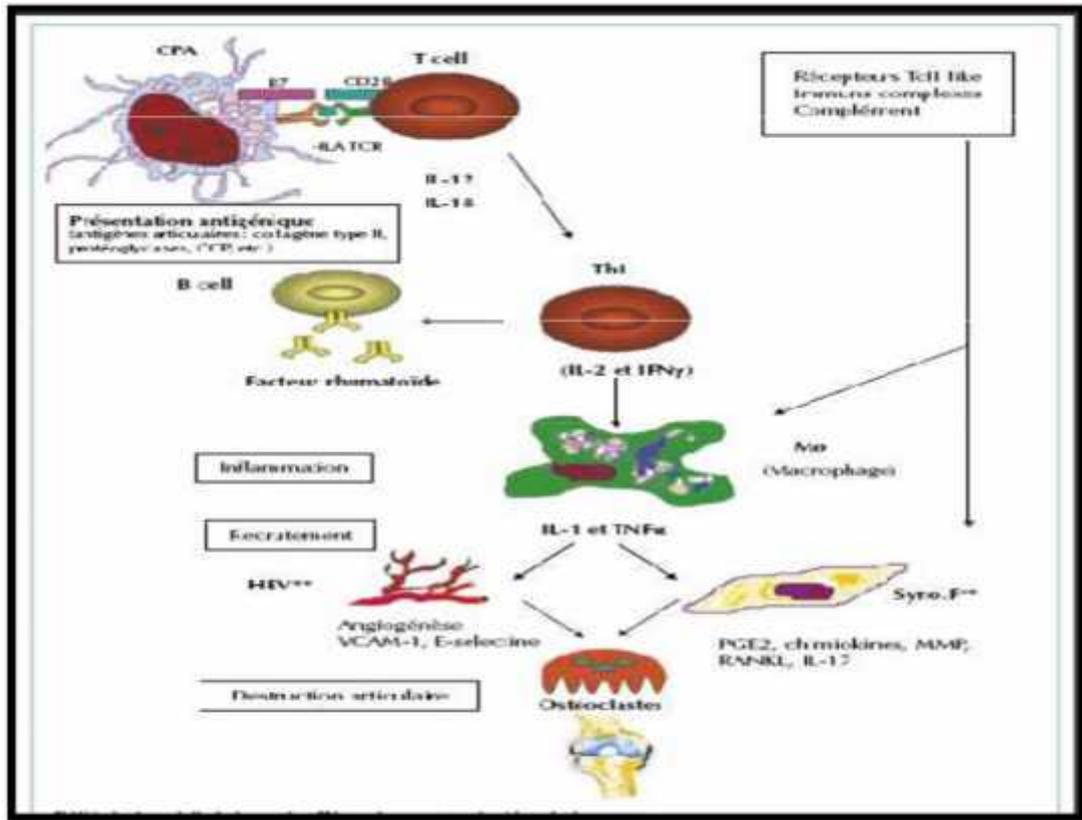


Figure 04 : Les différentes phases de la physiopathogénie de la PR (Benhamou A et Fautrel R, 2009).

Les manifestations inflammatoires sont poly articulaires et touchent principalement les articulations des membres et des ceintures, ainsi que les vertèbres cervicales. Elle entraîne douleurs, raideurs et déformations des articulations, qui gênent et limitent les mouvements, entraînant ainsi une invalidité sévère dans les cas plus graves.

2.1. Diagnostic

La polyarthrite rhumatoïde est classée parmi les maladies systémiques (existence de manifestations extra articulaires), les maladies auto-immunes (présence d'auto-anticorps, le facteur rhumatoïde, ACPA...) et les rhumatismes inflammatoires chroniques (caractère inflammatoire de la polyarthrite et évolution chronique, c'est à dire supérieure à 3 mois).

La PR réalise un tableau de poly synovite, caractérisé par une évolution chronique, progressive et une tendance érosive ou destructrice vis-à-vis des éléments constituant l'articulation (Silman A et Horchberg M, 1993) (Combe B, 2007).

Le diagnostic se fait actuellement à partir des Critères de classification de la polyarthrite rhumatoïde de l'American Collège of Rheumatology (ACR) définis en 1958 puis révisés en 1987. Ces critères ont une sensibilité de 91% et une spécificité de 89% (**Arnett F, Edworthy S, Bloch D et al., 1988**).

Les critères ACR de 1987 sont souvent pris à défaut à la phase de PR débutante. En effet, il est rare qu'une PR débutante soit d'emblée séropositive, nodulaire et érosive. De plus, ces critères n'intègrent pas les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (AC anti-CCP ou ACPA), dont la valeur diagnostique est reconnue et validée. Ainsi, le diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques, immunologiques et radiologiques.

La nécessité d'un diagnostic précoce est actuellement primordiale du fait de l'évolution des traitements utilisés dans la PR. Au début de la maladie, le traitement à le plus de chance d'autre efficace. En effet, à ce stade, il n'existe pas encore de lésions irréversibles et les traitements de fonds actuels, conventionnels ou les biothérapies, sont capables de limiter la progression de la maladie (**Combe B, 2007**).

Le principal objectif thérapeutique actuel (traiter vite et fort !) est de mettre le patient en rémission clinique et de prévenir la destruction articulaire par une intervention aussi précoce que possible, comme l'atteste les données issues du suivi des cohortes de patients ayant une PR débutante (**Smolen J et al., 2010**).

L'activité de la maladie peut être évaluée par plusieurs indices composites : le disease activity score (DAS ou DAS44) et sa version réduite, le DAS28, le simplified disease activity index (SDAI) et sa version modifiée, le clinical disease activity index (CDAI) (**Gaujoux V et al., 2009**).

Le DAS28 est actuellement l'indice le plus utilisé. Il est plus permissif dans sa définition de la rémission. Le DAS28 tient compte de l'indice articulaire, de l'indice synovial, de la première heure de la VS ou la CRP et de l'appréciation global du patient (évalue le retentissement global de la PR sur les activités quotidiennes sur une échelle EVA de 0 à 100 selon la sévérité) (**Prevo M et al., 1995**). En dépit des limites du plateau technique, toutes les composantes du DAS 28 sont accessibles dans nos contrées.

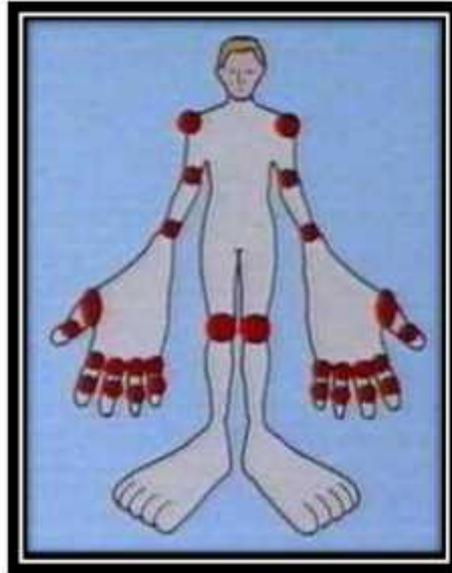


Figure 05: Représentation des 28 sites articulaires intervenant dans le calcul du score DAS 28 (www.gp-training.net) consulté le 04/09/2011.

2.2. Evolution

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie très hétérogène dont l'évolution est extrêmement variable d'un patient à l'autre. Il existe des formes sévères, avec soit des destructions articulaires rapides, source d'un handicap fonctionnel important, soit des atteintes viscérales pouvant mettre en jeu le pronostic vital. - l'opposé, la PR peut être bénigne, pouvant guérir complètement, soit entraîner peu ou pas de gêne fonctionnelle, avec des lésions radiographiques et des déformations minimales, voire inexistantes même après de longues années d'évolution (**Combe B, 2007**).

Des remissions spontanées sont fréquentes au cours de la polyarthrite rhumatoïde. Elles surviennent surtout au début de la maladie et peuvent durer de quelques mois à plusieurs années.

Les facteurs prédictifs de l'évolution vers une polyarthrite rhumatoïde sévère sont : le syndrome inflammatoire biologique, la présence d'auto-anticorps (FR et ACPA), les lésions radiographiques initiales et à un moindre degré les gènes HLA DRB1*04 (**Combe B, 2007**).

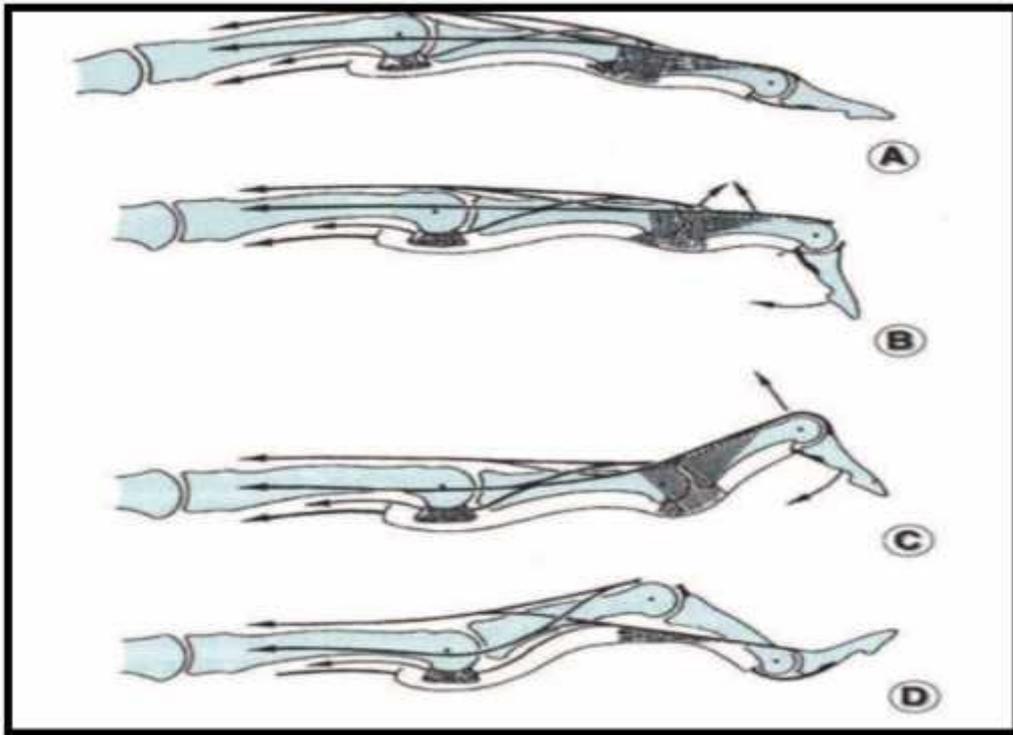


Figure 06: Mécanismes des déformations des doigts. A : balance tendineuse normale ; B : doigt « en maillet » ; C : doigt « en col de cygne » ; D : déformation « en boutonnière ».

(Sany J, 2003).

2.3. Traitement

La prise en charge thérapeutique de la PR a connu de profonds changements au cours de ces dernières années (**Breedveld F et Kalden J, 2004**). Ces changements ont été motivés par :

- la mise à disposition de médicaments plus performants :
 - traitements de fonds ou DMARDs (méthotrexate, hydroxychloroquine, leflunomide, sulfasalazine...)
 - biothérapies : inhibiteurs du TNF ou anti-TNF (infliximab, etanercept ,adalimumab, golimumab), rituximab, abatacept, tocilizumab, anakinra...ect.

La démonstration scientifique de nouveaux concepts, conduisant à de nouvelles stratégies thérapeutiques et à des objectifs plus ambitieux :

- nécessité de l'instauration d'un traitement efficace le plus rapidement possible (traiter vite et fort).
- supériorité des traitements « intensifs » précoces
- surveillance étroite de l'activité de la maladie afin de réadapter régulièrement la stratégie thérapeutique.

Les objectifs du traitement de la PR sont le contrôle de la douleur et de l'inflammation, le maintien de la qualité de vie, de la fonction et de l'insertion socioprofessionnelle (**Combe B, 2007**). (**Breedveld F et Kalden J, 2004**).

Le traitement médicamenteux initial repose actuellement sur l'association de corticoïdes à « dose rhumatoïde » (0,15mg/kg/24h, soit moins de 10mg/j de prednisone) et de traitements de fond, d'autant plus efficace qu'ils sont instaurés tôt dans l'évolution. En cas d'efficacité insuffisante, l'utilisation des biothérapies, en particulier les anti-TNF est envisagée (**Breedveld F et Kalden J, 2004**).

En raison des conditions socioéconomiques défavorables en Afrique subsaharienne, le choix thérapeutique dépend des disponibilités locales (**Roux H, 2002**). Le méthotrexate (« pierre angulaire » du traitement) et l'hydroxychloroquine sont les principaux traitements de fond utilisés en Afrique noire (**Mody M et Meyers O, 1989**). (**Diouf M et al., 2001**).

2.3.1. Les traitements chirurgicaux

La chirurgie vient compléter une prise en charge par les traitements médicamenteux dans le cas de PR actives et évoluées (**Talbert M, 1998**). Elle fait partie intégrante du traitement de la PR surtout dans les formes actives et évoluées. C'est une chirurgie fonctionnelle qui vise à rétablir une fonction défaillante et à apporter l'indolence (**Combe B et Flipo R, 2008**).

. Ses objectifs sont les suivants (**Talbert M, 1998**) :

- le contrôle de la douleur.
- l'amélioration de la fonction articulaire et la réduction de handicap fonctionnel.
- a prévention des ruptures tendineuses ou des désaxations articulaires.

Les techniques proposées sont les synovectomies, les arthroplasties prothétiques et les arthrodèses.

2.3.2. Traitements envisageables

Des traitements locaux peuvent être mis en place (<http://www.has-sante.fr>) :

- Les injections intra articulaires de corticoïdes, recommandées en cas d'inflammation persistante, mono ou oligoarticulaires afin de contrôler l'inflammation locale.
- Les injections péri-articulaires dans le cas d'inflammation persistante. Les synoviorthèses, qui consistent en l'injection intra articulaire d'un isotope sous contrôle scopique. Cette technique est proposée après échec d'au moins une infiltration intra articulaire de corticoïdes en cas d'inflammation articulaire persistante (au moins 3 mois).

Les professionnels de santé disposent aujourd'hui d'un arsenal thérapeutique relativement riche dans la prise en charge de la PR, offrant plusieurs alternatives permettant d'atteindre les objectifs thérapeutiques et plus particulièrement une rémission clinique. Il est aussi primordial d'accompagner le patient et de l'impliquer dans la prise en charge de sa maladie : en effet, certains traitements, comme les traitements biologiques, sont des traitements lourds (mode d'administration, effets indésirables sévères) pouvant parfois avoir un impact notable sur l'observance du patient.

2.3.3. Traitements symptomatiques

Les glucocorticoïdes ou anti-inflammatoires stéroïdiens

La corticothérapie générale (prednisone, prednisolone) est une puissante stratégie anti-inflammatoire, très souvent prescrite au cours des PR débutantes ou avérées et dont l'efficacité à court terme sur les signes inflammatoires est démontrée. Son utilisation est limitée par les effets indésirables bien connus de toute corticothérapie prolongée : fragilité cutanée, rétention hydro sodée et hypertension artérielle, susceptibilité aux infections, troubles psychiques, ostéoporose, diabète (**Carli P ; Landais C ; Aletti M; Cournac J; Poisnel E ; Paris J, 2009**).

3. Effets indésirables des anti inflammatoires non stéroïdiennes

Les anti inflammatoires non stéroïdiennes présentent, à des degrés divers, les mêmes risques d'effets indésirables, quelle que soit la voie d'administration (**Baumloh I, 2000**):

- Troubles gastroduodénaux :

- Nausées, diarrhée, douleurs épigastriques.

- Ulcère gastroduodéal.

- Hémorragie digestive.

- Réaction d'hypersensibilité :

- Cutanées : rash, urticaire, aggravation d'urticaire chronique, prurit.

- Générales : anaphylaxie (notamment chez les sujets présentant une allergie à l'aspirine), œdème de Quincke, vascularité (**Boumlöh I, 2000**).

- Troubles du SNC : Céphalées, insomnie, vertiges, malaise.

- Troubles cutanés : Rares cas de photosensibilisation, érythème polymorphe, dermatoses bulleuses, syndrome de Stevens Johnson, syndrome de Lyell.

- Complications hématologiques : Neutropénie, thrombopénie et plus rarement agranulocytose aigüe, poncytopéne.

- Troubles rénaux : Insuffisance rénale fonctionnelle, néphrites interstitielles aiguës

- Réactions hépatiques : Une simple élévation transaminases peut être constatée (**Talbert M, 1998**).

Partie I : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal de *Nigella sativa* L

1.1. Les graines de la nigelle

- nous avons acheté 300g des graines de *Nigella sativa* L. chez un herboriste à Ain defla, elles sont importées de la wilaya de Media (Algerie).



A)- les graines



B)-Poudre

Figure 07: matériel végétal de *Nigella sativa* L.

1.2. Broyage et tamisage

Les graines séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamiser à travers deux tamis de différentes granulométries (1 mm, 500 μ m) afin de pouvoir récupérer la poudre la plus fine.

Les poudres sont ensuite conservées dans des récipients en verre fermés hermétiquement et stockées à l'abri de la lumière pour des prochaines utilisations.

1.3. Appareils et produits chimique :

Appareillage

-) Plaque chauffante.
-) Balance de précision.
-) L'étuve.
-) Spectrophotomètre.
-) Centrifugeuse.
-) Boîtes pétries en verres.
-) Les tubes secs.
-) Micropipette.
-) Papier filtre.
-) Tubes à essai.
-) Entonnoir.
-) Agitateur (vortex).

Les réactifs chimique et solvants

-) réactif de Wagner (2g d'iodure de potassium KI + 1.27g iode I₂ + 100 ml d'eau distiller).
-) FeCl₃ à 1 %.
-) Chlorure D'aluminium.
-) d'anhydride acétique.
-) HCl (0.5 et 1%).
-) Tamponné de phosphate de sodium (2g NaCl + 1.24 Na₂HPO₄ + 800ml l'eau distillé).
-) Bovin sérum albumine.
-) Phosphate buffer saline (8g NaCl + 0.2g KCl + 0.24 KH₂PO₄ + HCl + 800ml l'eau distillé).
-) Liqueur de Fehling.

2. Méthode

2.1 Préparation des extraits:

2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux:

Nous avons ajouté 100 mL d'eau distillée à 10g de la poudre de *Nigelle Sativa L.* Après agitation le mélange est laissé pendant 72h. On suite le mélange est filtré. est sécher dans un étuve à 40°C.

2.1.2. Préparation de l'extrait hydro alcoolique:

Nous avons préparé 50 mL d'eau distillée et 50 mL d'éthanol, et 10g de la poudre de *Nigella sativa L.* Après avoir, agité le mélange et laissé pendant 72h. On suite le mélange est filtré et récupérer par le filtrat. est sécher dans un étuve à 40°C.

2.2. Calcul les rendements des extraits:

Le rendement en pourcentage a été calculé par la formule:

$$R(\%) = (m/m_0) \times 100$$

R (%) : rendement en pourcentage.

m : masse en gramme de l'extrait sec résultant.

m₀: masse en gramme du matériel végétal à traiter.

3. Test phytochimique:

L'un des buts essentiels d'un test phytochimique consiste la détection des différentes familles de métabolites secondaires existants dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation.

Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés ainsi que des examen en lumière Ultraviolette (**Hagerman A et al ., 2000**).

Dans cette partie nous avons utilisé les techniques standards décrites par (**Terease G et Evans W, 1989 ; Harborne J, 1998 ; Bruneton J, 1999**).

3.1. Les composés azotés : Les alcaloïdes

Dans un deux tube à essai, on ajoute 2 mL de chaque extrait additionné à 2 mL de réactif de Wagner (2g d'iodure de potassium KI +1.27g iode I₂+100 mL d'eau distiller).l'apparition d'un précipité blanc jaune indique la présence des alcaloïdes (**Majob F, 2003**).

3.2 Les composés polyphénoliques:

3.2.1 Les tanins:

Dans un tube à essai, introduire 5 mL d'extrait à analyser et ajouter 1 mL de solution aqueuse de FeCl₃ à 1 %. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre (**Trease G et Evans W, 1987**).

3.2.2 Les Flavonoïdes:

A 1mL d'extrait à tester, ajouter 1 mL ALCL₃, est reste 30min, Les flavonoïdes donnent généralement avec le magnésium en présence d'acide chlorhydrique une coloration rose ou rouge (**Harbarne J, 1973**).

3.3. Les composés terpéniques: Stérols et triterpènes

Evaporer à sec 10 mL de la solution à analyser, dissoudre le résidu dans 5 mL d'anhydride acétique puis 5 mL de chloroforme. A l'aide d'une pipette ajouter 1 mL de H₂SO₄ concentré à la paroi du tube sans agiter. Laisser reposer 30 minutes. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et triterpènes (**Benzahi K et Chaouch M, 2001**).

3.3.1 Les saponoides :

Prendre 2g de *Nigella sativa* L dans un 100 mL l'eau distiller et reste ébullition pendant 30 mn.après refroidissement et filtre la solution.

Ajouté 100 mL l'eau distillé dans le filtrat. Dans un deux tube on ajouté 10 mL de filtrat et 10 mL de l'eau distillé et dans autre tube on ajouté 1 mL de filtrat et 10 mL de l'eau distillé et Agité horizontale pendant 15 seconde et Repose 15 min et mesure l'hauteur de la mousse produite dans chaque tube (**Hakim A, 2014**).

L'indice de la mousse est calculé par la formule suivante :

$$I = \text{hauteur de la mousse} \times 10 / 0.09$$

3.4. Les composés réducteurs :

Introduire 2 mL d'extrait dans un tube, ajouter 2 mL de liqueur de Fehling (1 mL réactif A et 1 mL réactif B), incuber l'ensemble 8 min dans un bain marie bouillant.

L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Trease et Evans, 1987**).

4-Dosage des flavonoïdes :

La méthode utilisée pour estimation du taux de flavonoïde est celle décrite par (**Mbaebie B et al., 2012**). la coloration jaunâtre donnée dans cette méthode est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Iagnika L, 2005**).

1 mL de chaque extrait est ajouté à 1 mL d'une solution éthanolique de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2% et laisser incuber pendant 1h à une température ambiante.

Les absorbances sont mesurées par spectrophotomètre UV-visible à 420nm.

Les mêmes opérations ont été effectuées pour la quercétine à des différentes concentrations pour tracer la courbe d'étalonnage.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits sont calculées à partir de la courbe d'étalonnage obtenue et elles sont exprimées en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait (**mg EQ/g extrait**).

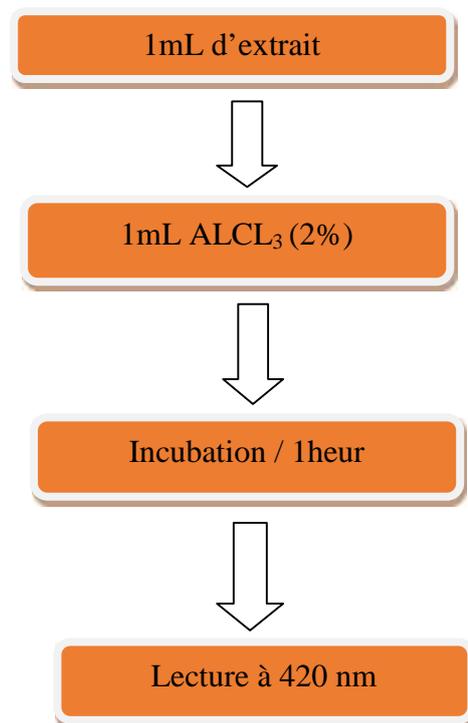


Figure 08: protocole de dosage des flavonoïdes (Ribéreau G, 1968).

5-Détermination activité anti arthritique *in vitro* :

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer *in vitro*. L'objectif du présent travail est d'étudier l'activité antiarthritique *in vitro* de *Nigella sativa* L par le test BSA et la dénaturation de l'albumine d'œuf.

5.1. Test de BSA :

5.1.1. Préparation des solutions de BSA et tamponnée de phosphate :

Préparation de solution du BSA : 500 mg de BSA dans 100 mL de l'eau distillé.

Préparation de tamponnée de phosphate : 800 mL de l'eau distillé, 2g de NaCl, 1.24 de Na₂HPO₄.

5.1.2. Préparation des extraits avec les solutions :

Dans un 4 tube d'essai on ajoute 0.05 mL de l'extrait aqueux de différent concentration (100 ,250 ,500 mg et 1g) plus 0.45 de BSA, même des tubes des extrait hydro alcoolique, chauffé des tubes pendant 3 min a température 57 c°. Refroidissement des tubes, on ajoute 2.5 mL de tamponnée de phosphate chacun d'extrait. L'absorption à été mesurée en utilise un spectrophotomètre UV visible 255 nm.

5.1.3. Méthode de BSA:

0,05 mL de différentes concentrations (50, 100, 250 mg / mL) de test et du médicament standard diclofénac sodique (50, 100, 250 mg / mL) ont été prélevés respectivement et 0,45 mL (0,5% w / V BSA) mélangés. Les échantillons ont été incubés à 37 ° C pendant 20 minutes et la température a été augmentée pour maintenir les échantillons à 57 ° C pendant 3 minutes. Après refroidissement, ajouter 2,5 mL de tampon phosphate aux solutions ci-dessus. L'absorbance a été mesurée en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible à 255 nm. Le témoin représente 100% de dénaturation des protéines. Les résultats ont été comparés avec le diclofénac sodique. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines peut être calculé comme suit : (Habibur R et al., 2015).

$$\text{Inhibition en pourcentage} = 100 - \left(\frac{\text{densité optique de la solution d'essai} - \text{densité optique du contrôle}}{\text{densité optique de l'essai}} \times 100 \right)$$

5.2. Test de dénaturation albumine d'œuf :

5.2.1. Préparation du phosphate buffer saline pH 6.3 :

Dissous 8g de sodium chloride 0.2g de potassium chloride (KCL) ,1.44 des sodiums hydrogène phosphate(Na_2Hpo_4) ,0.24g de potassium hydrogène phosphate (KH_2PO_4). Dans 800 mL de l'eau distillée. Le pH a été ajusté à 6.3 en utilisant 1N HCL et compléter le volume à 1000 mL avec de l'eau distillée.

5.2.2. Méthode :

Le mélange réactionnel (5 mL) consistait en 0,2 mL d'albumine d'œuf (d'œuf de poule frais), 2,8 mL de solution saline tamponnée au phosphate (PBS, pH 6,4) et 2 mL de

concentrations variables (0.01, 0.025 ,0.05mg /10 mL) de médicament. Un volume similaire d'eau distillée a servi de témoin. Ensuite, les mélanges ont été incubés à $37 \pm 2 \text{ C}^\circ$ dans un incubateur de DBO pendant 15 minutes puis chauffés à $70 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant cinq minutes. Après refroidissement, leur absorbance a été mesurée à 660 nm en utilisant le véhicule comme un blanc. Du diclofénac sodique à la concentration de 100, 250, 500 $\mu\text{g} / \text{mL}$ a été utilisé comme médicament de référence et traité de la même façon pour la détermination de l'absorbance (**Habibur R et al ., 2015**).

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$\% \text{ inhibition} = 100 \times [V t / V C - 1]$$

V t : l'absorbance de l'échantillon d'essai.

V c : l'absorbance du contrôle.

Chaque expérience a été faite en triple et le la moyenne a été prise.

La concentration de l'extrait pour une inhibition de 50% (CI50) a été déterminée par la courbe de réponse à la dose.

Etude statistique :

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel statistique XL Stat Pro 7.5. La détermination des taux de signification est effectuée par ANOVA suivie du test de Tukey. Les différences ont été considérées statistiquement significatives à ($P < 0,05$).

Partie II : Résultat et discussion

I. Screening phytochimique

I.1. Rendements d'extraction

Les rendements d'extraction d'extraits des graines de nigelle (*Nigella sativa L*) préparés dans différents solvants à polarité différentes.

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré des rendements d'extraction des graines de *Nigella sativa L* important, 8,02 % et 12,62 % dans les solvants (eau et hydro alcoolique), respectivement.

Ces résultats montrent que l'extrait hydro alcoolique de *Nigella sativa L* présente un rendement élevé par rapport à celui de l'extrait aqueux ($p < 0,05$).

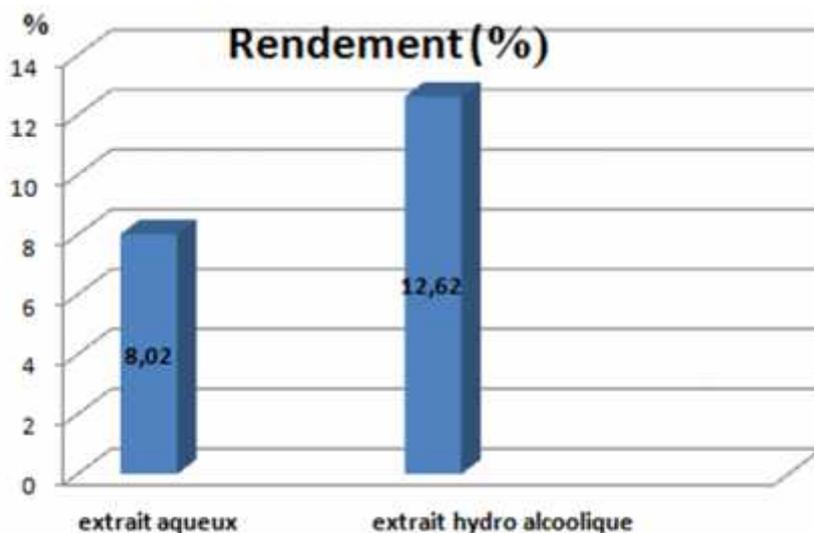


Figure 09 : le rendement d'extraction des extraits bruts des graines de *Nigella sativa L*.

Nos résultat ce comparé avec autre résultat de (Elalaoui M, 2014). D'après les résultats obtenus, il enregistré des rendements d'extraction des graines de nigelle importants, 31% et 19%, dans les solvants polaires (eau et hydro alcoolique), respectivement.

Pour les résultats de rendement, il est difficile de comparer les résultats d'extraction avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relative et semble être lié aux propriétés génétiques des graines ainsi qu'à l'origine géographique, et les conditions et à la durée de stockage de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées.

I.2. Les analyses qualitatives

Le screening phytochimique permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des graines de *Nigella sativa* L. La détection de ses composés est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité et un changement de couleur spécifique. Les résultats sont présentés dans les tableaux V.

La mise en évidence de la présence des stéroles et triterpènes est confirmée par l'apparition d'un anneau avec anhydride acétique, chloroforme et H_2SO_4 . Ces stéroles et triterpènes sont fortement présents dans l'extrait aqueux, et relativement moyens dans l'extrait hydro alcoolique.

Le test des tannins a révélé la richesse de l'extrait hydro alcoolique en tannins suivie de l'extrait aqueux. Alors que les types de l'extrait hydro alcoolique ont une présence moyenne par rapport à l'extrait aqueux.

Les flavonoïdes sont présents dans tous les extraits des graines de *Nigella sativa* L. mais avec des quantités variées. Cette constatation est attestée par l'apparition d'une coloration jaune plus ou moins intense dans le milieu réactionnel. Les résultats montrent que l'extrait hydro alcoolique est fortement riche en flavonoïdes. Une présence relativement moyenne est marquée dans l'extrait aqueux.

Les alcaloïdes sont confirmés par la présence d'un précipité blanc jaunâtre avec le réactif de Wagner. Ces alcaloïdes sont absents dans les différents extraits de *Nigella sativa* L.

Concernant la présence des composés réducteurs, l'extrait aqueux présente une teneur modérément faible suivie de l'extrait hydro alcoolique qui est nul.

Les saponosides sont présents faiblement dans l'extrait aqueux et absents dans l'extrait hydro alcoolique.

Tableau V : Résultats de l'analyse phytochimique des grains de *Nigella sativa* L.

Métabolites secondaires	Réactifs	Extraites aqueux	Extraits hydro alcoolique
Alcaloïdes	Wagner	-	-
Tanins	FeCl ₃	+	+++
Flavonoïdes	AlCl ₃	+	++
Saponoïdes	Indice de la mousse	-	++
Stéroles et triterpènes	-anhydride acétique	++++	+++
	-chloroforme		
	-H ₂ SO ₄		
Les composés réducteurs	Liqueur de Fehling (A et B).	++	-

- +++++ : une forte présence.
- +++ : une présence moyenne.
- ++ : une présence faible.
- + : une présence très faible.
- - : une présence nulle.

Les résultats ne concorde pas avec le résultat de (Elalaoui M, 2014) qu'il ya trouvé les résultats suivent : la présence des alcaloïdes et des tanins dans l'extrait aqueux par macération par rapport l'absence des flavonoïdes, saponines et les stéroles et tri terpènes.

Les tests phytochimiques effectués sur les différents extraits préparés, dans différents solvants (eau, éthanol), des graines de nigelle (*Nigella sativa* L), ont révélé la présence les tanins, les flavonoïdes, stéroles est triterpènes, les composés réducteurs dans l'extrait aqueux, les saponoïdes été faiblement détectées avec un indice de mousse dans l'extrait aqueux, Les tests de recherche des alcaloïdes ont été négatifs sur nos échantillons.

De plus, la graine de nigelle renferme plus d'une centaine de composés dont certains n'ont pas encore été étudiés ou identifiés, et la combinaison de ces constituants contribue aux différentes activités pharmacologiques (Toparslan H, 2012).

I.3. Les analyses quantitatives

Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait). La détermination des flavonoïdes dans les extraits a été obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine.

Pour les flavonoïdes, on a utilisé la gamme d'étalonnage de la quercétine ($y = 0,034 x$, $R^2 = 0,988$) et les résultats sont exprimés en équivalent de quercétine μg (EQ) / g d'extrait.

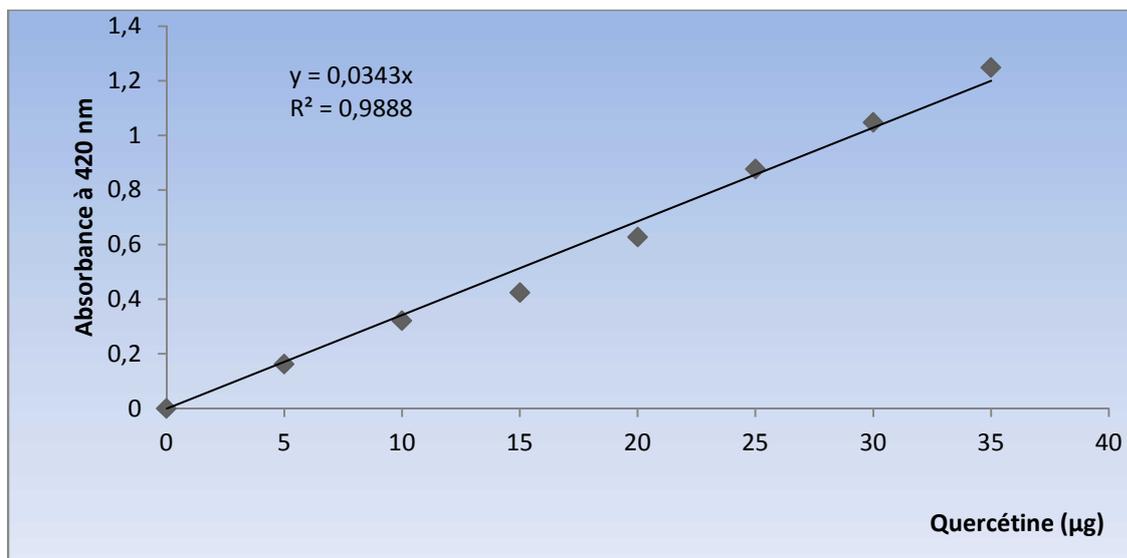


Figure 10 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

L'extrait hydro alcoolique a représenté significativement ($p < 0,05$) la teneur la plus élevée par rapport à l'extrait aqueux avec des teneurs de ($134,7 \pm 0,289$ mg EQ/g d'extrait) et ($48,495 \pm 0,035$ mg EQ/g d'extrait) respectivement, d'après l'analyse statistique, on a constaté qu'il existe une différence significative entre l'extrait aqueux et l'extrait hydro alcoolique ($p < 0,05$).

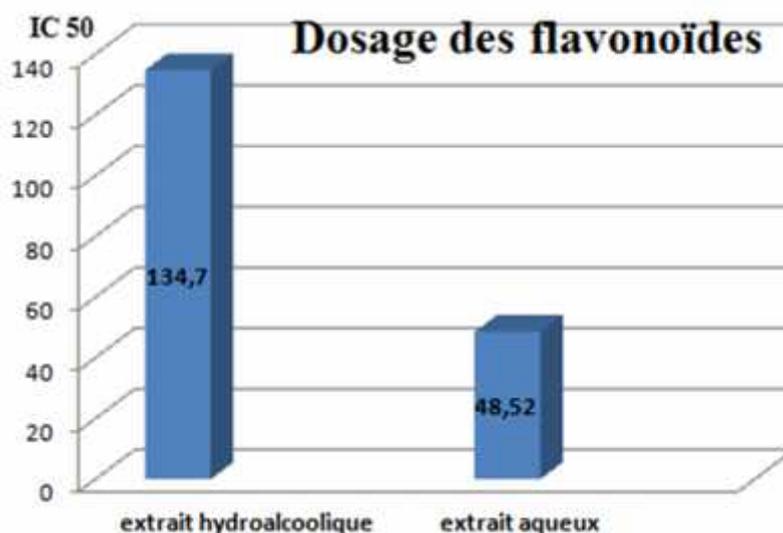


Figure 11 : Les teneurs des flavonoïdes dans les extraits des graines de *la Nigelle*.

Nos résultats ne concordent pas avec le résultat de (**Ramadan H et al., 2003**), qui a analysé l'Huile Totale de *Nigella sativa* L contient une quantité de la Fraction Neutre avec une teneur de $16,66 \pm 0,48 \mu\text{g EG/g}$ d'extrait. La teneur en flavonoïdes est plus élevée dans Huile Totale $1,34 \pm 0,21 \mu\text{g EQ/g}$ d'extrait que dans la Fraction Neutre avec $0,59 \pm 0,06 \mu\text{g EQ/g}$ d'extrait. Ces résultats sont montré que Huile Totale contient $24 \pm 0,11 \mu\text{g EG/g}$ d'extrait.

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium montre que la faible teneur en flavonoïdes dans la Fraction Neutre est expliquée par l'absence des composés polaires dans cette fraction (fraction apolaire). Sachant que Huile Totale est constituée, majoritairement, de composés apolaires (environ 97%) et une petite quantité de composés polaires dont les composés phénoliques (**Ramadan H et al, 2003**).Ceci peut expliquer la richesse relative de l'huile totale en ces composés en comparaison à nos extraits.

II. Les analyses des tests de l'activité antiarthritique

Dans notre analyse biologique, L'étude *in vitro* de l'activité antiarthritique ce fait par deux méthode principale : Activité antiarthritique par la méthode de BSA et Activité antiarthritique par la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf *in vitro*.

II.1. Les analyses de la méthode de BSA :

Les résultats du test réalisé sur l'extrait de *Nigella sativa* L et le diclofinac sodique les résultats sont récapitulés dans la figure 12.

Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

IC₅₀ de l'extrait hydro alcoolique (52.74±3.86) est significativement supérieure de IC₅₀ de diclofinac sodique (48.55±1.096) cette dernière est significativement supérieure IC₅₀ de l'extrait aqueux (37.795±0.671) mg/ml respectivement.

Tandis que il n'y a pas de différence significativement entre IC₅₀ de l'extrait hydro alcoolique et IC₅₀ de diclofinac sodique avec (p<0.05).

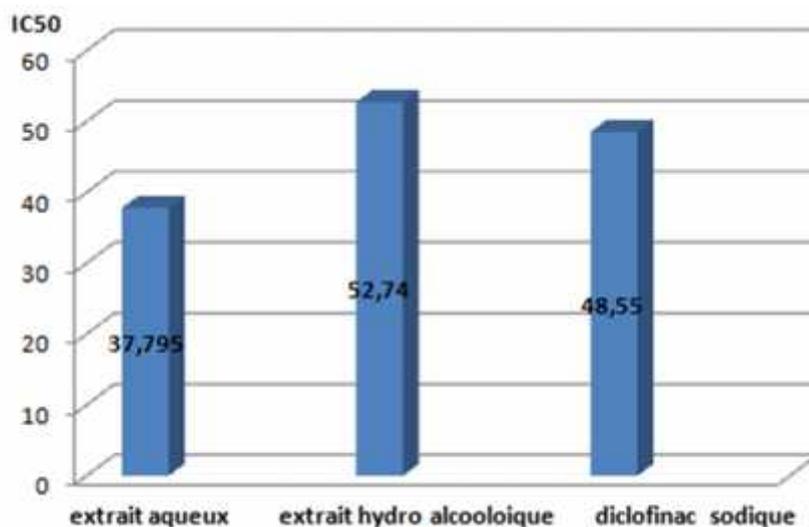


Figure 12 : les valeurs d'IC₅₀ pour la capacité antiarthritique totale.

D'après les résultats de ce test, sont différents à ceux publiés par (**Habibur R et al., 2015**). 100, 250 et 500 mcg / ml ont montré une inhibition de 39,29 ; 52,78 et 60,47% de la dénaturation du sérum bovin alors que le diclofénac standard à 100, 250 et 500 mcg / ml a montré une inhibition de dénaturation du sérum bovin de 93,20, 95,41 et 96,91%.

II. 2. Les analyses de la méthode de dénaturation d'albumine d'œuf

IC50 de diclofinac sodique (48.55 ± 1.096) est significativement supérieure de IC50 de l'extraits hydro alcoolique (46.75 ± 3.74) cette dernier est significativement supérieure IC50 de l'extrait aqueux (34.09 ± 2.26) mg/ml respectivement.

Tandis que il n'ya pas de différence significativement entre IC50 de l'extrait hydro alcoolique et IC50 de diclofinac sodique avec ($p < 0.05$).

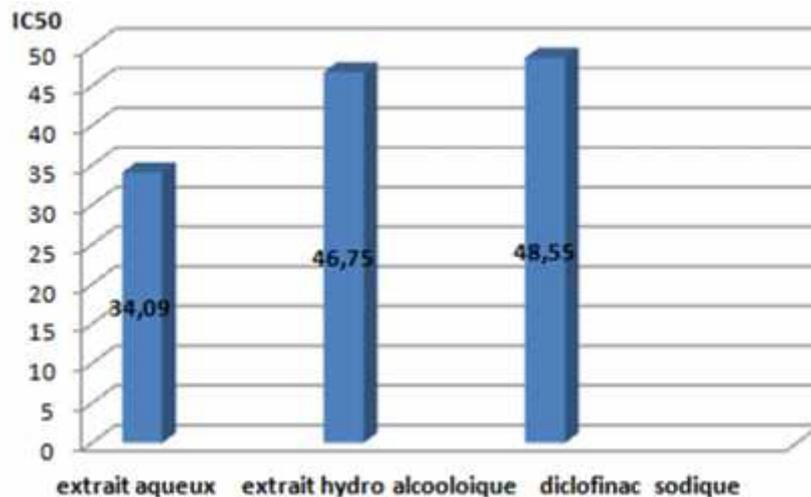


Figure 13 : les valeurs d'IC50 pour la capacité anti arthritique d'albumine d'œuf.

Les résultats concorde avec le résultat de (**Habibur R et al., 2015**) qui misent en évidence que la méthode de dénaturation de l'albumine à 100, 250 et 500 mcg / mL a montré une inhibition de 75,00 ; 80,31 et 84,15% de la dénaturation de l'albumine alors que le diclofénac standard à 100, 250 et 500 mg / mL a montré une inhibition de 27,78, 45,84 et 69,77%. Dénaturation de l'albumine.

D'après les méthodes suivant :

Les résultats ont montré que des graines de *Nigella sativa* L a une action anti-inflammatoire possède trois types de mécanismes anti-inflammatoires ont été mis en évidence dans les différentes études, l'inhibition de la production d'eicosanoïdes, l'inhibition de la synthèse de prostaglandines et la diminution de la production de monoxyde d'azote.

En Outre, *Nigella Sativa* L induit un effet analgésique comparable a celui de diclofinaque sodique mais n'a pas d'activité antipyrétique, l'effet anti-inflammatoire de *Nigella sativa* L

présenté dans cette étude et on accord avec les effets inhibiteurs de la thymoquinone et d'autre composants des graines médiateurs de l'inflammation.

Plusieurs travaux rapportent que la thymoquinone (TQ) est le principe actif essentiel responsable de l'effet anti-inflammatoire des extraits de *Nigella sativa*; la thymoquinone s'est avérée être un puissant inhibiteur de la thromboxane B2 et des leucotriènes B4 par l'inhibition respective des cyclooxygénase et lipooxygénase (**E1-Dakhakhny M et al., 2002 ; Hajhashemi V et al., 2004**). C'est un inhibiteur efficace de la production des leucotrienes par l'inhibition de la Leucotriène-C4-synthase (LT4 synthase) (**Mansour M et Tornhamre P, 2004**).

Plusieurs sauteurs ont étudié l'éventuelle activité anti inflammatoire d'extraits ou de composés purs issus de *Nigella sativa*.

Cependant, l'activité de l'huile fixe sur les cyclo-oxygénases et lipo-oxygénases est plus importante que la thymoquinone elle-même; l'activité anti-inflammatoire n'est pas donc entièrement due à la présence de la thymoquinone. Des acides gras insaturés de type C20: 2 semblent être impliqués.

Une étude a mis en évidence l'effet inhibiteur de la production du monoxyde d'azote (NO) par les macrophages péritonéaux en présence d'extrait aqueux de *Nigella sativa* L.

Les macrophages ont été incubés avec l'extrait aqueux, puis ils ont été activés par les LPS (lipopolysaccharides) *d'E coli*; la production de NO est mesurée après 24 heures.

La production de NO est diminuée de façon dose –dépendante, donc l'extrait aqueux de *Nigella Sativa* inhibe la synthèse de NO, médiateur pro-inflammatoire, notamment retrouvé dans le rhumatisme (**Mahmood M et al., 2003**).

Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent.

Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicaux tels que les antiarthritiques.

Ces molécules naturelles de nature phénolique sont très recherchées en phytothérapie vu les effets secondaires des médicaments. L'objectif principal assigné par cette étude englobe le même contexte afin d'effectuer l'extraction et l'évaluation phytochimique des métabolites secondaires et l'étude *in vitro* de l'activité antiarthritique des extraits des graines de *Nigella Sativa* L.

La mise en évidence de la présence des métabolites secondaires par le screening phytochimique dans les extraits préparés à partir des graines de *Nigella Sativa* L révèle la présence des flavonoïdes, des tannins, les composés réducteurs dans tous les extraits.

La préparation des extraits des graines de la Nigelle a permis l'obtention des deux extraits : l'extrait hydro alcoolique, l'extrait aqueux dont les rendements respectifs sont 12,62% et 8,02%. Le rendement le plus important a été obtenu avec l'extrait aqueux.

Pour les flavonoïdes la teneur la plus élevée est trouvée dans l'extrait hydro alcoolique (134.7 ± 0.289 mg EG/g) suivie par l'extrait aqueux (48.495 ± 0.035 mg EG/g).

L'étude de l'activité antiarthritique a donné une bonne efficacité anti inflammatoire par le médicament diclofinac sodique du différent test de l'extrait aqueux et hydroalcoolique avec IC₅₀ de l'extrait aqueux et hydroalcoolique et diclofinac sodique du 1^{er} test de ($37,795 \pm 0.671$ mg/mL), (52.74 ± 3.86 mg/mL), (48.55 ± 1.096 mg/mL) et pour 2^{eme} test avec albumine d'œuf (34.09 ± 2.26 mg/mL), (46.75 ± 3.74 mg/mL), (48.55 ± 1.096 mg/mL) respectivement. Cette méthode a confirmé IC₅₀ faible qui contient une bonne efficacité.

D'après les résultats de l'activité antiarthritique des différents extraits des graines de la Nigelle, peut être cette activité est due en présence la thymoquinone est un agent anti-

inflammatoire, qui inhibe plusieurs enzymes impliquées dans l'inflammation et supprime la libération d'histamine par les cellules immunitaires, et agit sur certains médiateurs de l'inflammation ; puis c'est un agent antiarthritique.

En prescriptives il est intéressant de :

- ✓ Réaliser d'autre étude *in vitro* et *in vivo* pour confirmer nos résultats.
- ✓ Etudie complémentaires sont nécessaires pour élucider les mécanismes d'action des différents constituant des graines de la Nigelle.
- ✓ La détermination de la composition chimique par LC-MS.

A

- Abdel-Al E.S.M., R.S. Attia, 1993.Characterization of black cumin (*Nigella sativa*) seeds. 2-Proteins. Alex Sci. Exch. n. 14, pp. 483-496.
- Abdel-Fattah, A.M., Matsumoto, K., Watanabe, H. (2000) Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *European journal of pharmacology* . 400: 89-97.
- Abdel-Wahhab, M.A., Aly, S.E. (2005) Anti-oxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (glove) in rats during aflatoxicosis. *Journal of applied toxicology*.25: 218-223.
- Agrawal, R., Kharya, M.D., Shrivastava, R. (1979) Antimicrobial anthelmintic activities of the essential oil of *Nigella sativa* Linn. *Indian journal of experimental biology* . 17: 1264-1265. Agriculture. Vienna, 26p.
- Agrawal, R., Kharya, M.D., Shrivastava, R. (1979) Antimicrobial anthelmintic activities of the essential oil of *Nigella sativa* Linn. *Indian journal of experimental biology* . 17: 1264-1265.
- Ait-Mbarek, L., Ait Mouse, H., Elabbadi, N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., Benharref, A., Chait, A., Kamal, M., Dalal, A., Zyad, A. (2007) Anti-tumor properties of black seed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 40: 839-847.
- Al-Hader, A., Aqel, M., Hasan, Z. (1993) Hypoglycemic effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds. *International Journal of Pharmacognosy*. 31: 96-100.
- Ali, B.H., Blunden, G. (2003) Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*.
- Aljabre, S.H.M., Randhawa, M.A., Akhtar, N., Alakloby, O.M., Alqurashi, A.M., Aldossary, A. (2005) Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *Journal of Ethno pharmacology*. 101: 116-119.
- Atta M. B., 2003. Some characteristics of nigella(*Nigella sativa*L.)seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry*, vol. 83, n. 1, pp. 63-68.
- Altan, M.F., Kanter, M., Donmez, S., Kartal, M.E., Buyukbas, S. (2007) Combination therapy of *Nigella sativa* and human parathyroid hormone on bone mass, biomechanical

behavior and structure in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta histochemica*.109: 304-314 national immune pharmacology. 5: 195-207.

- Amenai HG; (2006).médicinale plante :traditions of yesterday and brugs of tomorrow molecular aspects of médecine .27-1-7.

- Anonyme 2004. International plant Names index, Avaible [online] from: <http://WWW.ipni.org> [accessed 18 january 2006].

- Anonyme, 2005. Nigella sativa http://en.wikipedia.org/wiki/Nigella_sativa.

- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.

- Atta, M.B., Imaizumi, K. (1998) Antioxidantactivity of nigella (Nigella sativa L.) seedsextracts. *JAPAN Oil Chemists' Society*. 47: 49-54.

- Awad, E.M. (2005) In vitro decrease of the fibrinolyticpotential of cultured human fibro sarcoma cell.

B

- Badary, O.A., AI-Shabanah, O.A., Nagi, M.N., Al-Rikabi A.C., Elmazar, M.M. (1999) Inhibition of benzo(a) pyrene-induced for estomach carcinogenesis in mice by thymoquinone. *European journal of cancer prevention*. 8: 435-440.

- Benkaci-Ali F, 2007.Etude de la composition chimique de la nigelle sativa originaire d'algerie.Thèse de doctorat d'état en chimie organique appliquée, USTHB, 216.p.

- Benzahi K. (2001) Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodn Dactylon-L (chindent), mémoire de magister. Université d'Ourgla, p : 15-17.

- Bonnier G. ; Douin R. 1993.La grande flore en couleur. Tome 3; Ed Belin, Paris.

- Boskabady, M.H., Shiravi, N. (2000) Inhibitory effect of Nigella sativa on histamine (H 1) receptors of isolated guineapig tracheal chains. *The European respiratory journal* .16: 461.

-Bonnier, G. 1990 La grande flore en couleur. Ed Belin, Paris. Tome 1. pp: 17.

- Boskabady, M.H., Shirmohammadi, B., Jandaghi, P., Kiani, S. (2004) Possible mechanism(s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from *Nigella sativa* on tracheal chains of guinea pig. *BMC Pharmacology*. 4: 3-8.
- 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.
- Bousbia, N., 2004. Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriandre, origan, thym, romarin) : étude de leur activité antimicrobienne. Thèse de magister en science alimentaires, (INA), El harrah, 130p.
- Breedveld FC, Kalden JR. Appropriate and effective management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63 :627-33.
- Bruneton J (1993 ; 1999) : Pharmacognosie : Phytochimie & Plantes médicinales. 2^e.
- Burits, M., Bucar, F. (2000) Anti-oxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*. 14: 323-328. *Chemistry*. 2004; 19: 431-436. des végétaux ». Ed Dunod, Paris. human blood cells by thymoquinone. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2002; 17: 161-164.
- Büyükoztürk, S., Gelincik, A., Özeker, F., Genç, S., Avran, FO., Kiran, B., Yillar, G., Erden, S., Aydın, F., Çolakoğlu, F., Dal, M., Özer, H., Bilir, A. (2005) *Nigella sativa* (black seed) oil does not affect the T-helper1 and T-helper 2 type cytokine production from splenic mononuclear cells in allergen sensitized mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 100: 295-298.

C

- CARLI P, LANDAIS C, ALETTI M, COURNAC JM, POISNEL E, PARIS JF. Traitement actuel de la Polyarthrite Rhumatoïde. *La revue de Médecine Interne* décembre 2009, vol 30, issue 12, pp 1067-1079.
- Cemek, M., Enginar, H., Karaca, T., Unak, P. (2006) In vivo radioprotective effects of *Nigella sativa* L oil and reduced glutathione against irradiation-induced oxidative injury and number of peripheral blood lymphocytes in rats. *Photochemistry and photobiology*. 82: 1691-1696.

- Chaabi M ;(2008). Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales Africaines : Euphorbia Cunocla paille .Thèse de doctorat en pharmaco chimie, Université, Luis Pasteur et Mentouri, Constantine.
- Chakravarty, N. (1993) Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. *Annals of allergy*. 70: 237-242.
- Chandra, S., P. Chatterjee, P. Dey and S. Bhattacharya,2012. Evaluation of Anti-inflammatory Effect of Ashwagandha: A Preliminary Study in vitro. *Pharmacognosy Journal*, 4(29): 47-49.
- Chaouch. (2001).Etude des alcaloïdes dans la Coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya d' Ourgla).Mémoire de magister. Université d'Ourgla.p :44.
- Cheikh-Rouhou et al (2006), BESBES S, LOGNAY G, BLECKER C, DEROANNE C AND ATTIA H. 2008. Sterol composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) and Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seed oils. *J Food Comp Anal* 21: 162-168.
- COMBE B, CANTAGREL A, GOUPILLE P, BOZONNAT MC, SIBILIA J, ELIAOU JF, et al. Predictive factors of 5-year health assessment questionnaire disability in early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003 ; 30:2344-9.
- COMBE B, FLIPO RM, Traitement de la Polyarthrite Rhumatoïde de l'adulte. DIU Web Etudes approfondies des polyarthrites et maladies systémiques, 2008, Cours semaine n°5.
- Combe B. Polyarthrite rhumatoïde : clinique et diagnostic, EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Appareil locomoteur, 14-220-A-10, 2007.

D

- Daba, M.H., Abdel-Rahman, M.S. (1998) Hepato protective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicology letters*. 95: 23-9.
- Dapurkar, V. K., G.K. Sahu, H. Sharma, S. Meshram, G. Rai and G.K. Sahu, 2013. Anti-Arthritic Activity of Roots Extract of *Boerhaavia Diffusa* in Adjuvant Induced Arthritis Rats. *Sch. Acad. J. Pharm*, 2(2): 107-109.
- Diouf ML, Diallo S, Mbengue M, Moreira-Diop T. Methotrexate, liver and rheumatoid arthritis in tropical areas. *Sante* 2001; 11:195-200.

- Doepke W. et Fritsch G. (1970). Alkaloid content of *Nigella damascena*. *Pharmacie*. 25: 69-70.

E

- El-Kadi, A., Kandil, O., Tabuni, A.M. (1987) *Nigella sativa* cell-mediate immunity. *Archives of AIDS*

- El-Dakhakhny, M., Barakat, M., Abd El-Halim, M., Aly, S.M. (2000) Effect of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 72: 299-304.

- El-Dakhakhny, M., Mady, N.I., Lembert, N. (2002) The hypoglycemic effect of *Nigella sativa* oil is mediated by extra pancreatic actions. *Planta medica*. 65: 465-466.

- El-Mahmoudy, A., Shimizu, Y., Shiina, T. (2005) Successful abrogation by thymoquinone against induction of diabetes mellitus with streptozotocin via nitric oxide inhibitory mechanism.

- El-Mahmoudy, A., Matsuyama, H., Borgan, M.A., Shimizu, Y., El-Sayed, M.G., Minamoto, N. (2002) Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages. *International immune-pharmacology*. 2: 1603-1611.

- El-Saleh, S.C., Al-Sagair, O.A., Al-Khalaf, M.I. (2004) Thymoquinone and *Nigella sativa* oil protection against methionine-induced hyperhomocysteinemia in rats. *International journal of cardiology*. 93: 19-23.

- El-Tahir, K. E., Ashour, M.M., Al-Harbi, M.M. (1993) The respiratory effects of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in guinea pigs: elucidation of the mechanism(s) of action. *General pharmacology*. 24: 1115-1122.

- ENHAMOU M, FAUTREL B. Biothérapies et rhumatismes inflammatoires. *Médecine thérapeutique*, vol.15, n°3, juillet-août-septembre 2009 : 188-196.

- Ennadir J., Hassikou R., Bouazza F., Arahou M., Al Askari G. et Khedid K. 2014. Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. *Phytothérapie* 12 : 302-308.

- Extrait de la brochure «Vivre avec une Polyarthrite Rhumatoïde», laboratoire Bristol-Myers-Squibb, Décembre 2010.

- Elaloui MD., (2014).contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'effet hémolytique d'extrait brut hydroalcoolique des graines de Nigella Sativa L.MASTER. p32.

G

- Gaujoux-Viala C, Mouterde G, Baillet A et al. Evaluation de l'activité de la polyarthrite rhumatoïde, quel indice faut-il utiliser ? Rev Rhum 2009; 76:S3-S10..

- Ghannadi, A., Hajhashemi, V., Jafarabadi (2005) An investigation of the analgesic and anti-inflammatory effects of Nigella sativa seed polyphenols . Journal of medicinal food. 8: 488-493.

- Ghedira K. 2006. La Nigelle Cultivée : Nigella sativa L. (Ranunculaceae). Phytothérapie 5 : 220-226.

- Ghedira K. et Le Jeune R. 2010. Huile de nigelle cultivée, Nigella sativa L.

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

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

- Gilani, A.H., Aziz, N., Khurram, I.M., Chaudary, K.S., Iqbal, A. (2001) Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of Nigella sativa seeds (Kalonji). Journal of the Pakistan Medical Association. 51: 115-120.

- Guignard J-L., Henry M. Abrégé de phytochimie. Masson; Paris New York Barcelone Mexico Sao Paulo (1985). P 121-124).

H

- Habibur Rahman et al., 2015. In-vitro Anti-inflammatory and Anti-arthritis Activity of 3rd Edition. Editions techniques et documentation & éditions médicales internationales, analgesic and anti inflammatory drug. Phytother Research. 2004;18: 195-199.

- Hagerman AE, Muller-Harvey I, Makkar HPS (2000): Quantification of tanins in analysis. Third Edition. ISBN:0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB).

-Hajhashemi V., Ghannadi A., Jafarabadi H. Black cumin seed essential oil, as a potent and oil fractions. Journal of agricultural and food chemistry. 51: 6961-6969.

- Hakim Alilou, 2014. Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolens* ssp. *odorus*. p:3.
- Haq, A., Abdullatif, M., Lobo, P.I., Khabar, K.S.A., Sheth, K.V., Al-Sedairy, S.T. (1995) *Nigella sativa* : effect on human lymphocytes and polymorpho nuclear leukocyte phagocytic activity. *Immuno pharmacology*. 30: 147-155.
- Harbarne JB. ,(1973) phytochemiquel méthode, London. Chapman and Hall, LTD, 49-188.
- Harborne J.B.,(1998): Phtochemical methods. A guide to modern techniques of plants.
- Hawsawi, Z.A., Ali, B.A., Bamosa, A.O. (2001) Effect of *Nigella sativa* (Black seed) and thymoquinone on blood glucose in albino rats. *Annals of Saudi medicine*. Med. 21: 242-244.
- Hegi G. 1975. *Illustrierte Flora Von Mitteleuropa*, Volume III/3, 2 nd Ed, Parey, Berlin.)
- Houcher, Z., Boudiaf, K., benboubetra, M., Houcher, B. (2007) Effects of methanolic extract and commercial oil of *Nigella sativa* L. on blood glucose and antioxidant capacity in alloxan-induced diabetic rats. *Pteridines*. 18: 8-18.
- Houghton, P.J., Zarka, R., de las Heras, B., Houlst, J.R. S. (1995) Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leucocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med*. 61: 33-36.
- <http://www.nova-pharma/L3V.PRI.rf> Consulté le 12-02-2009.

I

- Iddamaldeniya, S.S., Wickramasinghe, N., Thabrew, I., Ratnatunge, N., Thammitiyagodage, M.G.(2003) Protection against diethyl nitro soamine-induced hepato carcinogenesis by an indigenous medicine comprised of *Nigella sativa*, *Hemides musindicus* and *Smilax glabra* : a preliminary study. *Journal of Carcinogenesis*. 2: 1-6.
- Iserin P. 2001. *En cyclopedia of Médicinal Plants*. 2 nd Ed. Darling Kindersiey Limited. P. 239.

J

- J. Sany. *Polyarthrite rhumatoïde de l'adulte : conception actuelle*. John Libbey Eurotext, Montrouge, 2003.

K

- Khanna, T., Zaidi, F.A., Dandiya, P.C. (1993) CNS and analgesic studies on *Nigella sativa*. *Fitoterapia*. 64: 407-410.
- Kokoska L. 2011. Chemistry and Biological Activity of *Nigella* Genus : The antimicrobial and anti-inflammatoire effects of seed extracts, essential oils and compounds of six *Nigella* spicies. Edition : LAP LAMBERT Academic publishing GmbH& Co.KG. U.S.A. pp 1.
- Kumara, S.S., Huat, B.T. (2001) Extraction, isolation and characterization of antitumorprinciple, alpha- hederin, from the seeds of *Nigella sativa*. *Planta medica*. 67: 29-32.

L

- Lagnika L. (2005)."Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises."Thèse de doctorat Université Louis pasteur.Strasbourg, 249p.
- Lebre 'ton P. (1986). Les flavonoïdes, marqueurs systématiques chez les Renonculacées. *Planta Med Phytother*. 4: 275-286.

M

- Mahmood, M.S., Gilani, A.H., Khwaja, A., Rashid, A., Ashfaq, M.K. (2003) The in vitro effect of aqueous extract of *Nigella sativa* seeds on nitricoxide production. *Phytotherapy research*. 17: 921-924.
- Mahmood, M., Gilani, A., Khwaja, A., Rashid, A., & Ashfaq, M. (2003). The in vitro effect of aqueous extract of *Nigella sativa* seeds on nitric oxide production. *Phytother Res* , 17, 921-924.
- Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R., (2003). *Phytochemical* .
- Mansour M., Tornhamre S.Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in
- Marie A et Savelli., (1955) ;In Salah et le Tidikelt oriental, Etude historique, géographique et médical. *Arch Inst Pasteur Alger* 33(4) :367-432.
- Mashhadian, N.V., Rakhshandeh, H. (2005) Antibacterial and antifungaleffects of *Nigella sativa* extracts against *S.aureus*, *P. aeroginosa* and *C.albicans*. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 21: 47-52.

- Mbaebie .BO. Edeoga . HO, Afolayan. AJ ,(2012) « Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotialatifolia*Jacq ».Asian pacific Journal of Tropical Biomedicine,2:118-124.
- Meral, I., Yener, Z., Kahraman, T., Mert, N. (2001) Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration,
- Meziti A. (2009). Activité anti-oxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Etude in vitro et in vivo. Thèse de magistère. Département des sciences biologique. Université de El-Hajlekhder (Batna) Algérie 15-20p.
- Mody M, Meyers OL. Rheumatoid arthritis in black in South Africa. Ann Rheum Dis 1989 ; 48:69-72.).
- Mokkedem A., 2004. Guide pratique des cultures en secs de quelques plantes médicinales, condimentaires et aromatiques. INRAA, El-Harrach, 10 p.
- Morsi, N.M. (2000) Antimicrobialeffect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics- resistantbacteria. Acta microbiologica Polonica. 49: 63-74.oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products *Oryza sativa*Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam).article, p: 117.
- Musa, D., Dilsiz, N., Gumushan, H., Ulakoglu, G. And Bitiren, M. (2004) Anti-tumo ractivity of an ethanol extract of *Nigella sativa* seeds. Biologia, Bratislava. 59: 735-740.

N

- Nagi, M.N., Mansour, M.A. (2000) Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats : a possible mechanism of protection. Pharmacological research. 41: 283-9.
- Nair, M.K.M., Vasudevan, P., Venkitana rayanan, K. (2005) Anti bacterial effect of black seedoil on *Listeria monocytogenes*. Food Control. 16: 395-398.
- Nergiz C., Otles S. 1993. Chemical composition of nigella (*Nigella sativa* L) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. Food Chemistry. 83: 63-68.

O

- Ozenda P. 2000 les végétaux : organisation et diversité biologique, 2 é édition Dunod, Paris. Phytotherapy research. 17 : 299-305.

P

-Prevo ML, van 't Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van de Putte LB, van Riel PL. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995 ; 38 :44-8. rabbits. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 48: 539-599.

R

- Rahman, H., C.M. Eswaraiah, K. Vakati and P. Madhavi, 2012. An In-Vitro Studies Suggest Probable Mechanism Of Eucalyptus Oil For Anti-Inflammatory And ti-Arthritic Activity. *International Journal of Phytopharmacy*, 2(3): 81-85.

- Raj Kapoor, B., Anandan, A., Jayakar, B. (2002) Anti-ulcer effect of *Nigella sativa* Linn. Against gastric ulcers in rats. *Current Science*. 82: 177-179.

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

- Ramadan, M.F., Kroh, L.W., Mörsel, J.T. (2003) Radical scavenging activity of black cumin (*Nigella* research. 1: 232-233. *Research*. 77-82.

- Recommandations HAS – Prise en charge de la polyarthrite en phase d'état – Recommandations professionnelles 2007 (<http://www.has-sante.fr>).

- Riberau-Gayon P.(1968). Propriétés chimique des phénols. In « les composés phénoliques

- Roux H. Polyarthrite rhumatoïde en Afrique subsaharienne. *Rev Rhum* 2002; 69:797- 800.

S

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

- Salem, M.L. (2005) Immuno-modulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. Seed. *International Immuno-pharmacology*. 5: 1749-1770.

- Salim, E.I., Fukushima, S. (2003) Chemo preventive potential of volatile oil from black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds against rat colon carcinogenesis. *Nutrition and cancer*. 45: 195-202.
- Sanago Rokia. ; (2006).le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle, université de Bamako. Mali. *sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.), and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) crude seeds oils screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical*
- Sany J. Polyarthrite rhumatoïde de l'adulte: conception actuelle. Paris: John Libbey Eurotext; 2003. p.7.
- Silman AJ, Horchberg MC, eds. *Epidemiology of the rheumatic diseases*. Oxford: Oxford Medical Publications, 1993:7-68).
- Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma JW et al. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis* 2010 ; 69 :631-7.
- Swamy, S.M., Tan, B.K. (2000) Cytotoxic and immune-potentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds. *Journal of Ethno pharmacology*. 70: 1-7.

T

- Takruri HRH, Dameh MAF 1998. Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa* L.) *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76, 404-401.
- TALBERT M. (1998). *Guide pharmacologique*, LAMMARIE ,3^{éd}, Paris, 49-61.
- Talbi H, Boumaza A, El-mostafa K , Talbi J , Hilali A. 2015. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanoliques et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Mater. Environ. Sci.* 6 (4): 1111-1117.
- Thabrew, M.I., Mitry, R.R., Morsy, M.A., Hughes, R.D. (2005) Cytotoxic effects of a decoction of *Nigella sativa*, *Hemidesmus indicus* and *Smilax glabra* on human hepatoma HepG2 cells. *Life Sciences*. 77: 1319-1330.
- Thippeswamy, N.B., Akhilender, N.K. (2005) Antioxidant potency of cumin varieties- cumin, black cumin and bitter cumin- on antioxidant systems. *European food research and technology*. 220: 472-476.

- Tillequin F., Leconte C. et Paris M. (1976). Sesqui terpene hydro carbons from *Nigella damascena* seeds. *Planta Med.* 30: 59-61.
- Toparslan.,(2012) ; A propose de *Nigelle Sativa L.* thèse en vue d'obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie, faculté de pharmacie, université de lorraine France.
- Toparslan.,(2012) ; A propose de *Nigelle Sativa L.* thèse en vue d'obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie, faculté de pharmacie, université de lorraine France.
- Trease et Evans W C. (1987)-pharmacognosie, Billiaire Tindal. London 13 th Edition.p :61-62.
- Trease G.E. & Evans W.C., (1989) :A text book of pharmacognosy (13 th Edition).
- Teuscher E, Anton R, Lobstein A., 2005.plantes aromatique : épices, aromates,condiments et huile essentielles. Ed. Ed. La voisier, Paris ,522p.

W

- www.gp-training.net(consulté le 4/09/2011). (Ranunculaceae). *Phytothérapie* 8 :124-128.

Z

- zelmati et al ;1990, effet antibactérien de *Nigella Sativa* , par Nour Elyakin BOUDJEMAA et Hadjer BENGUEGUA. University kasdi Merbah Ourgla,2010 .mémoire.p :7.
- Zohary M. 1983. The genus *Nigelle* (Ranunculaceae) – a taxonomic révision. *Plant Systématique and Evolution* 142, 71-107).
- Zouaghi, N., 1985.Extraction des huiles essentielles des grainsde *Nigella Sativa*par entraînement à la vapeur d'eau.Thèse d'ingénieur en génie chimie (ENP), ElHarrach, 96 p.



Annexe 01: Filtrations de l'extrait aqueux



Annexe 02: Filtrations de l'extrait éthanolique.



Annexe 03: PH mètre.



Annexe 04: Le spectrophotomètre.



Annexe 05: Centrifugation.



Annexe 06: La Balance De Précision.



Annexe 07: L'étuve.



Annexe 08: Le Bain Marie.



Annexe 09 : Les résultats screening phytochimique des extraits bruts des graines de *Nigella Sativa* L.