



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

MÉMOIRE

Présenté par

Bouhassane Yousra

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie

Thème

Evaluation de l'activité antimicrobienne de la plante médicinale

Nigella sativa

Encadreur	Dr. BOUALI Waffa	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice 1	Dr. BELKACEM Nacéra	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice 2	Dr. MEDJDOUB Houria	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier dieu (**Allah**) le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces années et la force d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, je tiens à remercier J'exprime ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à mon encadreur **Mlle BOUALI Wafaa**, maître de conférences classe A au département de biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la vie et de la terre à l'Université, Tlemcen pour ces encouragements, ses conseils, sa disponibilité et sa patience et son aide durant toute la période du travail. Merci de votre confiance en acceptant de me guider dans la réalisation de ce travail.

Je remercie également Mme **BELKACEM Nacéra**, maître de conférences classe B d'avoir accepté d'examiner ce travail, je veux remercier pour votre dévouement et votre disponibilité.

J'adresse ma plus profonde gratitude examinatrice 2 **Mme MEDJDOUB Houria**, maître de conférences classe B pour avoir accepté d'examiner et juger ce travail, pour son aide et de m'avoir accordé de leur temps. Veuillez trouver dans ce travail mon profond respect.

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde mes chers parents : ma mère **Sadjia**, et mon père **Mohammed** qui m'ont appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, leur soutien, leurs sacrifices et patience et confiance pendant tout long de mes études. Vous avez guetté mes pas par vos prières et tendresses. Ce travail est le fruit de votre semence et le témoignage de mon amour et ma grande fierté de vous.

A mes sœurs : **Marwa, Meriem** et **wided**, je n'oublierais jamais ton soutien les moments d'examens. , je vous aime beaucoup.

A mes chères frères : **Imed** et **Yasser** pour leur humour, leur taquineries et leur précieux conseils.

A mes grands-mères, **Rabha et khadija** pour toutes vos prières pour moi pendant tout ma période d'étude.

A **Chahinez et ikram**, mes deux amies je vous aime merci pour votre encouragement en souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères de réussite.

A mes amie d'enfance **Imen** et **Yasmine**, merci pour votre encouragements, je vous aime beaucoup.

Liste des abréviations

PL : phospholipide
HPLC : chromatographie liquide à haute performance
UV : lumière ultraviolet
GGT : γ -glutamyl transférase
ALAT : alanine amino transférase
NSE : extrait de *Nigella sativa*
TQ : thymoquinone
CMI : concentration minimale inhibitrice
DPPH : diphenyl -1-picryl hydrazyl
TBHQ : tert-butylhydroquinone
GSH : Glutathion réduit
GPX : glutathion peroxydase
SOD : Super Oxyde Dismutase
ADN : acide désoxyribonucléique
IL3 : Interleukine-3
NK : Naturel killer
CMB : concentration minimale bactéricide
CMF : concentration minimale fongicide
NS : *Nigella sativa*
AMP : ampicilline
UFC : Unité Formant Colonie
 μ g : microgramme
ml : millilitre

Liste des figures

N°	Titre	page
01	: la plante entière de <i>Nigella sativa</i> et des graines médicinales	5
02	: Aspect morphologique de la plante <i>Nigella sativa</i> L (a) : fleur ; (b) : capsule (c) : graine	6
03	: Représentation chimique du thym quinone et de ses dérivés retrouvés dans L'huile Essentielle de <i>N.sativa</i> L., d'après	9
04	: Rendement en pourcentage d'extraits de graines de <i>Nigella sativa</i>	20

Liste des tableaux

N°	Titre	page
01	Noms communs de <i>Nigella sativa</i> L.....	4
02	Taxonomie de <i>N.sativa</i>	6
03	tableau représentes les souches bactérienne et les souches fongique	15
04	Effet antibactérien des extraits de graines de <i>Nigella sativa</i>	21
05	Activité antimicrobienne des huiles essentielles (g/ml) de <i>Nigella sativa</i> utilisant test Minimum inhibiteur (CMI) et minimum bactéricide/fongicide (CMB/CMF)	22

Sommaire

Introduction générale	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
1 Les plantes médicinales :	2
1.1 Historique :	2
1.2 La phytothérapie :	2
1.3 Les plantes médicinales et leurs utilisations :	3
2 Présentation de <i>Nigella sativa</i> :	3
2.1 Généralité :	3
2.2 Historique :	4
2.3 Description botanique de <i>Nigella sativa</i> :	5
2.4 Culture de <i>Nigella sativa</i> :	7
2.5 Composition générale :	7
2.5.1 Les protéines :	7
2.5.2 Les vitamines et sel minéraux :	7
2.5.3 L'huile :	8
2.5.3.1 L'huile fixe :	8
2.5.3.2 L'huile essentielle :	8
2.5.4 Composé aromatique :	9
2.5.5 Les flavonoïdes :	10
2.5.6 Les alcaloïdes :	10
2.5.7 Les Saponoside :	10
2.6 L'utilisation de <i>Nigella sativa</i> :	11
2.7 Toxicité :	11
2.8 Propriétés pharmacologie de <i>Nigella sativa</i> :	11
2.8.1 Propriétés antimicrobiennes :	11
2.8.2 Propriétés antioxydantes <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> :	12
2.8.3 Effets sur le système immunitaire :	13
2.8.4 Propriétés anti-inflammatoires et analgésiques :	14
Partie II : Expérimentale, Traitement d'articles	
Chapitre 2 : Matériel et Méthodes	
1 Problématique:.....	15
2 Matériels végétal:.....	15

3Matériels biologique:.....	15
Article N°01	
1Le titre d'article:.....	18
2Les activités réalisé dans ce travail:	18
3Protocol suivi:.....	18
3.1Préparation de l'extrait:	18
3.2 Evaluation de l'effet antibactérien de <i>Nigella sativa</i> :	18
Article N°02	
1 Le titre d'article:	19
2 Protocol suivi:.....	19
3.1 Préparation de l'extrait:.....	19
3.2 Activité antimicrobienne:	19
Chapitre 3 : Résultats et discussions.....	20
Conclusion et perspectives :	24
Références bibliographiques:	25
Annexes:.....	30

Introduction générale

Introduction générale

Depuis ancien temps l'homme utilise plusieurs plantes pour traiter des différentes maladies pathologiques. Les plantes médicinales ont été utilisées pour guérir les maladies pendant de nombreux siècles dans différents systèmes de médecine indigène ainsi que dans les médecines traditionnelles.

Actuellement, la science confirme les différents domaines d'application des plantes médicinales sont très utilisés dans l'industrie alimentaire, dans les cosmétiques et dans l'industrie pharmaceutique (qui consiste à utiliser les huiles essentielles).

La *Nigelle* est l'une des plantes médicinales la plus utilisée à travers le monde et notamment dans tout le monde Arabo-musulman. Depuis plusieurs siècles elle est souvent appelée remède.

La *Nigelle* utilisée comme épice pour la conservation des aliments ainsi qu'un protecteur et curatif contre plusieurs problèmes de santé (**Chopra et al., 1956**).

Durant ces vingt dernières années de nombreuses équipes de recherche se sont intéressées à *Nigella sativa* et les différents effets pharmacologiques de ces grains (**Roy et al., 2006**).

Nigella sativa est considérée comme une plante miracle en raison de son merveilleux pouvoir de guérison. Il présente un large spectre de potentiel pharmacologique et thérapeutique révélé dans de nombreuses recherches.

Les différentes recherches sur la bio-activité et les compositions chimiques de *Nigella sativa* ont confirmé ces propriétés qui sont dues en majorité aux huiles fixes et essentielles extraites.

La présente étude vise à analyser trois articles sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de quelques extraits vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques.

Ce travail est organisé en deux grandes parties :

La première partie est d'ordre théorique comporte un chapitre sur les plantes médicinales, *Nigella sativa* et leurs propriétés pharmacologiques.

La deuxième partie est d'ordre expérimental, suite aux conditions sanitaires à cause de la pandémie mondiale du Covid-19, cette partie est présentée sous forme d'un traitement de deux articles. Les résultats trouvés sont discutés dans la partie résultat discussion.

Finalement, la dernière partie consacrée pour une conclusion générale

Partie I :
Synthèse bibliographique

1. Les plantes médicinales

1.1. Historique

Des plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique. Récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles a mené des auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales et en raison d'une conscience croissante des effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes, beaucoup cherche les remèdes normaux sans effets secondaires et bien sûr coût élevé de médecine conventionnelle (**Hamilton et Shah, 2004**).

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique (8000 ans av. J.C.). L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations glanées au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade (**Mouhammedi, 2009**).

1.2. La phytothérapie

Le terme « Phytothérapie », provient du grec « *phyton* » qui signifie « plante » et « *therapein* » qui signifie « soigner » (**Vacheron, 2010**).

La Phytothérapie peut se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (**Wichtl et Anton, 2003**).

On peut la distinguer en trois types de pratiques (**Clément, 2005**).

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement.
- Une pratique basée sur les avancées et les preuves scientifiques, qui recherchent des principes actifs extraits des plantes.
- Une pratique de prophylaxie, déjà utilisée dans l'antiquité. Nous sommes tous Phytothérapeutes sans le savoir : c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage d'Ail, du Thym, du Gingembre ou simplement du Thé vert ... Une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique.

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (. Elles sont dérivées soit de plantes entières, soit de parties de plantes (feuilles, pédoncules, bourgeons, fleurs, racines, tubercules). Elles incluent les herbes simples, les préparations traditionnelles, le mélange d'herbes différentes et l'association d'un de ces trois types de préparation à une médication occidentale active (**Fransworth et al., 1986**).

1.3 Les plantes médicinales et leurs utilisations

Les plantes médicinales sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Cette connaissance ancestrale fut à l'arrivée de la médecine traditionnelle mise de côté au profit de la prise de médicaments d'ordonnance souvent plus puissants et agissant plus rapidement que la médecine traditionnelle utilisée auparavant. Par contre, aujourd'hui nous assistons au retour de l'utilisation des plantes médicinales pour favoriser la santé. Chaque plante médicinale a une définition qui lui est propre et une utilisation spécifique (**Kansole, 2009**).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisées directement comme des agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**Decaux, 2002**). Les plantes sont donc la source principale de substances actives, et pas uniquement dans la médecine traditionnelle (**Palomo, 2011**).

2. Présentation de *Nigella sativa*

2.1. Généralité

Nigella sativa L, est une plante herbacée appartenant à la famille des Renonculacées (**Guignard, 2001**). 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, 2009**).

Nigella sativa n'est pas connu uniquement pour les propriétés médicamenteuses en médecines, mais l'arôme est largement utilisé (**YimerEm, 2019**).

La graine ou l'huile qui en est issue est employée aussi comme diurétique, carminatif, cholagogue et vermifuge (**Ghedira, 2006**).

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

Tableau 01 : Noms communs de *Nigella sativa* L. (KokoskaL, 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	Habatulbarakah.
Iranienne	Siahdaneh.
Turquoise	Corekotu
Indonésienne	Jintenhitam
Indienne	Mangral, kaladana, kalaunji.

2.2 Historique

Nigella sativa est une plante développée sur les terres semis arides au sein de communautés naturelles qui prédominent les thérophytes (Antuono, 2002 ; Badary, 2003). Elle est largement cultivée en Europe, en Syrie, en Egypte, en Arabie Saoudite, en Turquie, en Iran, au Pakistan et en Inde à des fins culinaires et médicinales. Les graines, appelées également cumin noir, ainsi que l'huile dont elle est issue, ont été utilisées traditionnellement comme carminatif, diurétique, galactagogue et vermifuge (Ghedira, 2010).

Nigella sativa découverte sur la tombe de Toutankhamon, était considérée par les Egyptiens de l'Antiquité comme une panacée. Chez les Grecs anciens (Hippocrate et Galien), 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 *De Materia Medica*), les graines de *nigelle* étaient utilisées pour traiter les maux de tête, les algies dentaires, la congestion nasale et pour combattre les vers intestinaux, comme diurétique, pour favoriser les menstruations et comme galactagogues.

En fait, cette plante occupe une place spéciale pour son grand spectre d'application médicale dans la civilisation islamique dû au proverbe du Prophète Mohamed (salut et miséricorde soit sur lui) ; « El habbah sauda est un médicament pour toutes les maladies sauf la mort ». Ces paroles sont restées pour longtemps un mystère pour la science jusqu'à l'arrivée des techniques modernes qui ont réussies à prouver les vertus thérapeutiques des graines de cette plante. Elle est considérée comme un remède naturel pour plusieurs pathologies, surtout les traitements de l'asthme, de l'inflammation, de la toux, de l'eczéma et des états grippaux. La

graine ou l'huile de la *nigelle* est employée comme diurétique, carminatif, cholagogue et vermifuge (Ghedira, 2006).

2.3 Description botanique de *Nigella sativa*

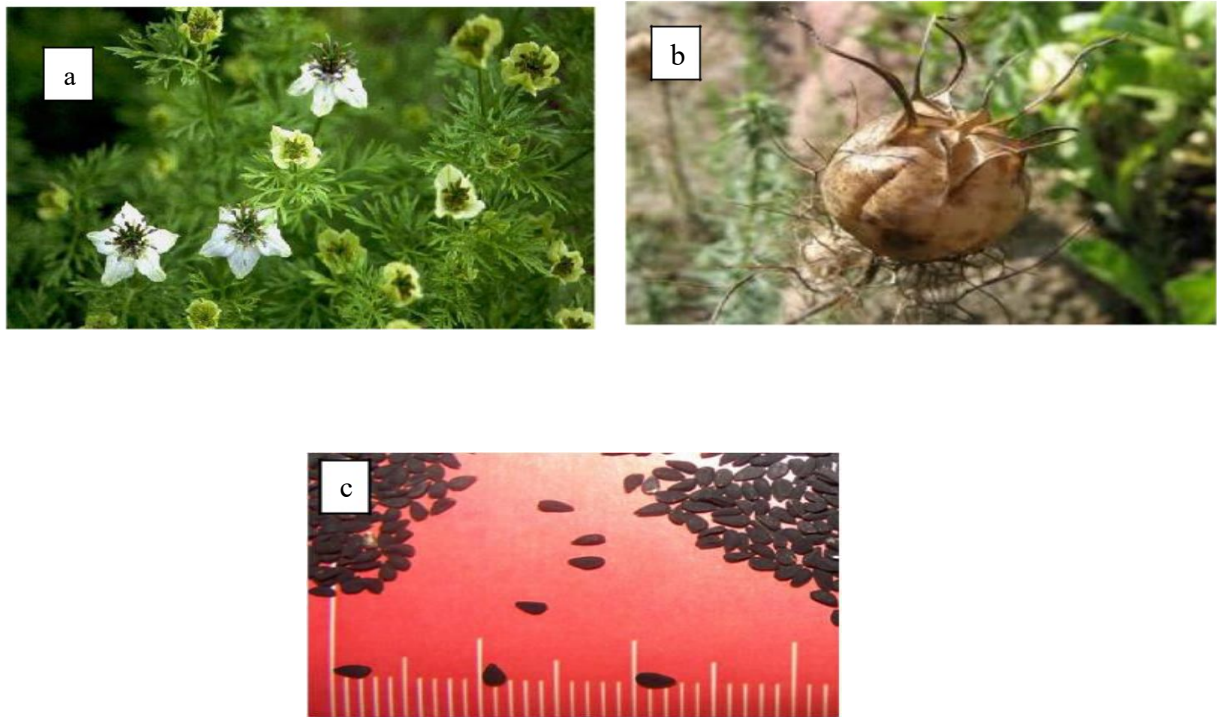
Nigella sativa est une plante à floraison annuelle qui pousse jusqu'à 20–90 cm de haut, à feuilles finement divisées, le segment des feuilles est étroit et linéaire. Les fleurs sont délicates et généralement colorées en blanc, jaune, rose, bleu pâle ou violet pâle avec 5–10 pétales.

Celles-ci sont de petites dicotylédones, trigone, anguleux, tubercule régulier, 2–3,5 mm × 1–2 noir à l'extérieur et blanc à l'intérieur, légèrement aromatique au goût amer piquant (figure1).



Figure 01 : la plante entière de *Nigella sativa* et des graines médicinales (Ahmad *et al.*, 2013 ; Ansari *et al.*, 2017).

La plante est hermaphrodite à reproduction autonome dont le fruit est une capsule formée de 3 à 5 carpelles soudés entre eux jusqu'à la base des styles persistants (Aymonin, 2014). Chaque capsule contient plusieurs graines triangulaires blanchâtres et à maturité, elles s'ouvrent et l'exposition des graines à l'air les rend noire, ses graines sont ovoïdes de 2 à 3.5 mm présentent 3 à 4 angles avec une face supérieure finement granuleuse et réticulée (Ghedira, 2006).



(a) : fleur ; (b) : capsule ; (c) : graine

Figure02 : Aspect morphologique de la plante *Nigella sativa* L (Guignard, 2001)

Nigelle est un genre d'environ 20 espèces de plantes annuelles dans la famille des Renonculacées (Tableau 1) (Kooti et al., 2016 ; Sultan et al., 2017).

Tableau 02 : Taxonomie de *N. sativa*

Classification scientifique	
Règne	<i>Plante</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Renoncules</i>
Famille	<i>Renonculacées</i>
Genre	<i>Nigella</i>
Espèces	<i>N.sativa</i>

2.4 Culture de *Nigella sativa*

Nigella sativa est une plante cultivée très largement en dehors de l'Europe : en Russie, Turquie, Egypte, Arabie saoudite, Ethiopie, Afrique du nord, Syrie, dans les Balkans, en Moyen et Extrême Orient, Inde, Bangladesh, au Sri Lanka. Le principal pays producteur est l'Egypte (**Fabienne, 2005**). *Nigella sativa* pousse dans des sols limoneux principalement en Europe du Sud en Afrique du Nord et en Asie du Sud-Ouest et également cultivée dans la région méditerranéenne du Moyen-Orient¹³¹⁴.

Culture 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, (**Mokkedem, 2004 ; Bousiba, 2004 ; Benkaci, 2007**).

2.5 Composition générale

2.5.1 Les protéines

Les graines de *Nigella sativa* ont une teneur élevée en protéines (environ 16%), dominée par l'acide glutamique (22,4%), l'acide aspartique (10,05%) et l'arginine (9,18%) (**Al-Gaby, 1998**). Jusqu'à présent, la protéine la plus étudiée est la lipase qui catalyse la réaction de Trans estérification (**Tuter et al., 2003**). L'analyse des acides aminés de ces hydrolysats de protéines a révélé qu'il y avait 17 acides aminés, dont 8 acides aminés essentiels (**Al-Jassir, 1992 ; Salem, 2005 ; El-Obeid et al., 2006**).

2.5.2 Les vitamines et sel minéraux

La composition en vitamines a été déterminée et révèle la présence des vitamines B1, B2, B6, PP et de l'acide folique (**El-Tohamy1, 1993**). Par ailleurs Ramadan et Mörsel (2002) analysé les vitamines liposolubles de *Nigella sativa* et ont pu identifier toutes les classes de vitamine E (α , β , δ , γ -tocophérols), dont l' α -tocophérol et le γ -tocophérol sont les tocophérols majoritaires et constituent 48% et 28% de la totalité de vitamine E. Aussi la provitamine A (β -carotène) et la vitamine K1 (phylloquinone) ont été également détectées (0,05% et 0,1% d'huile fixe totale).

Des travaux sur la composition minérale des graines de *Nigella sativa* ont montré la richesse qualitative en sels minéraux notamment le potassium, le calcium, le phosphore et le magnésium avec des teneurs de l'ordre de 808, 570, 543, 265mg/100g respectivement. Le sodium, le fer, le manganèse, le zinc et le cuivre ont été aussi détectés (**Sultan et al., 2009**).

2.5.3 Les huiles

2.5.3.1 L'huile fixe

L'huile fixe de la *Nigelle* L'huile fixe représente 37,9-39,2% du poids de la graine. Elle est constituée principalement de lipides neutres 96,1%-97,2%, de lipides polaires 3% et de phospholipides 0,32-1,05% (**Ramdan et Mörsel, 2002**). L'analyse des phospholipides (PL) par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a permis d'identifier principalement sept constituants ; phosphatidyl choline (46% des PL), phosphatidyl éthanol amine (25%), phosphatidyl sérine (12%), phosphatidylinositol (9,56%), lysophosphatidyl choline (4,23%), phosphatidyl glycérol (1,51%) et lysophosphatidyl éthanol amine (1,2%) (**Ghedira, 2006**).

Une étude complémentaire sur les glycolipides de *Nigella sativa* a permis de séparer et d'identifier six composés dont le plus abondant est le digalactosyldiacyl glycérol qui forme 55,6% des glycolipides totaux (**Ramdan et Mörsel, 2002**). L'analyse phytochimique de deux variétés des graines de *Nigella sativa* (provenant d'Iran et de Tunisie) montre que le principal acide gras insaturé est l'acide linoléique suivi par l'acide oléique, alors que l'acide gras saturé majoritaire est l'acide palmitique. La présence d'autres acides gras ; myristoléique, palmitoléique, margarique, arachidique, eicosénoïque, behénique, lignocérique a été également détectée (**Cheikh-Rouhou et al., 2007**).

Ultérieurement Benkaci-Ali et ses collaborateurs en 2012, ont mis en évidence la richesse de l'huile de *nigelle* en stérols (17,41-42,66% de la matière insaponifiable), dont le β -sitostérol est le plus abondant (44-54%), suivi par le stigmastérol (16.57–20.92%), Δ^7 -stigmastérol, Δ^7 -avenastérol et le cholestérol qui sont également détectés mais à des taux plus faibles (**Cheikh-Rouhou et al., 2007**).

2.5.3.2 L'huile essentielle

Cette huile représente entre 1,4–1,9% du poids de l'huile fixe et 0,18 à 0,50% du poids des graines. Récemment, l'huile essentielle de *Nigella sativa* cultivée au Sahara algérien et extraite par deux méthodes différentes, à savoir l'hydrodistillation et la distillation par micro-onde, a été analysée par CPG et GC-MS. 112 composés ont été identifiés et caractérisés. Le p-cymène représente toujours le composé le plus abondant suivi de la thymoquinone (**Benkaci-Ali et al., 2007**).

Une autre étude réalisée par **Burits et Bucar (2000)**, basée sur une analyse par GC-MS, a permis d'identifier 32 composants, dont la majorité d'entre eux sont des monoterpènes ; la thymoquinone (27,8%-57%), p-cymène (7,07-15,83%), carvacrol (5,8-11,6%), longifolène (1,2-8%), 4-terpinol (1,98-6,59%), et le t-anéthol (0,25-4,28%)

Contrairement à l'étude précédente, Moretti et ses collaborateurs (2004) ont trouvé que le composant majeur est le p-cymène suivi du thymol alors que la thymoquinone présente un taux faible (Moretti et al., 2004).

2.5.4 Composés aromatiques

On pense que la majeure partie de l'activité pharmacologique est due à l'azote. Luzerne extraite de son huile essentielle. C'est pourquoi la composition de cette huile volatile a été étudiée en 1960 (Mahfouz et El-Dakhakhny, 1960). Ce n'est qu'en 1963 qu'El-Dakhakhny a isolé une thymoquinone monoterpène oxydée de l'huile de *De Nigelle*, Et quelques autres recherches. Mettez en évidence les principaux ingrédients (Canonica et al., 1963).

Burits et Bucar (2000), ont identifié par GC-MS, 32 constituants dont la majorité sont des monoterpènes : p-cymène (38%), thymoquinone (30%), carvacrol (5-11%), α -pinène (5-14%), β -pinène (5%), limonène (4%), longifolène (1,2-8%), 4-terpinéol (1,98-6,59%) et anéthol (0,25-4,28%) (Burits et Bucar, 2000). La présence de thymohydroquinone, de thymol, de produits d'oxydation de lathymoquinone, comme la dithymoquinone sont signalés dans la figure 3.

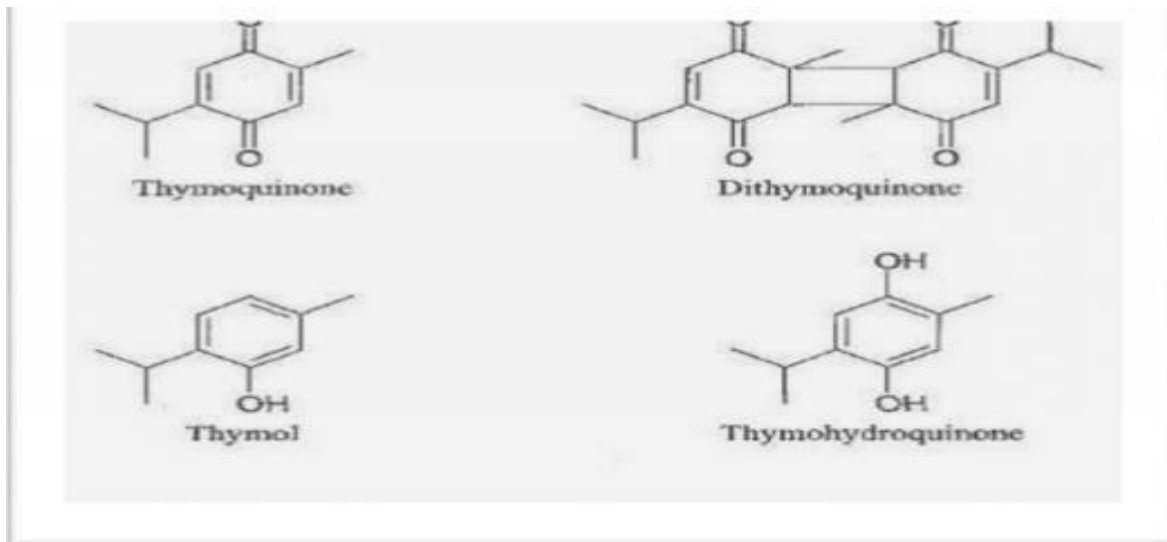


Figure 03 : Représentation chimique de la thymoquinone et de ses dérivés retrouvés dans l'huile essentielle de *N. sativa L* (Cihan Toparlan, 2012).

2.5.5 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les pigments des végétaux ; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils sont aussi universellement présents dans la

cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles assurant la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV. Les flavonoïdes constituent un large groupe de composés polyphénols comprenant les flavones, les flavonols, les auronnes, les chalcones et leurs hétérosides. Dans la *Nigelle* on retrouve des hétérosides de flavonols. (**Bruneton, 1999 ; Merforti, 1997**).

Trois flavonoïdes triglycosylés ont été isolés à partir des graines de *Nigella sativa* ; la quercétine 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside, kœmpférol 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside et quercétine 3- (6-feruloglucosyl) (1→2) galactosyl (1→2) glucoside (**Merfort et al., 1997**).

2.5.6 Les alcaloïdes

Les graines de *Nigella* contiennent également des alcaloïdes. *Nigellicine* (**Atta-Ur-Rahman et al., 1985a**) et *Nigellidine* avec noyau indazol (**Atta-Ur-Rahman et al., 1995**), isoquinone *Nigellimine* (**Atta-Ur-Rahman et al., 1992**) et ses oxydes d'azote (**Ur-Rahman et al., 1985b**) et les *nigellamines* alcaloïdes de type Dollabllane A1, A2, B1, B2 (**Morikawa et al., 2004a**), A3, A4, A5 et C (**Morikawa et al., 2004b**).

2.5.7 Les Saponoside

Les saponosides sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes ; ils sont très largement distribués dans les végétaux. Ils libèrent par hydrolyse un ou plusieurs oses et une génine (sapogénine). (**Greenich, 1880**). Une de leurs caractéristiques est leur propriété tensioactive : les saponosides se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes. (**Bruneton, 1999**). En 1882, Greenisch est isolée au XIXème siècle la première saponine de *Nigella sativa* qui nommée mélanthine, dont l'aglycone est l'hédéragénine (**Greenish, 1980**).

Une étude ultérieur **Kumora ; Haut (2001)** aussi confirmés Dans tous les cas, les saponines trouvées dans les graines de Nigelle ont pour aglycone l'hédéragénine, une géninetriterpénique. (**Kumara et Huat ,2001**).

Depuis, plusieurs autres saponosides apparentées à l' α -hédérine ont été isolées par, Taskin 2005 et collaborateur à partir de l'extrait méthanolique, avec l'élucidation de leurs structures par des méthodes chimiques et spectrales ; 3-O- β -D-xyl (1-3)- α -L-rha-(1-2)- α -L-ara-28-O- α -L-rha(1-4)- β -D-glu(1-6) - β -D-glu-hédéragénine,3-O- α -L-rha-(1-2)- α -L-ara-28-O- α -L-rha(1-4)- β -D-glu(1-6)- β -D-glu-hédéragénine,k3-O- β -D-xyl(1-3)- α -L-rha-(1-2)- α -L-ara-hédéragénine. Uinone (**Benkaci-Ali et al., 2007**).

2.6 L'utilisation de *Nigella sativa*

La *nigelle* tient une place importante parmi les plantes médicinales les plus utilisées et ce, depuis plus que 2000 ans. La *nigelle* a été trouvée sur la tombe de Toutankhamon, elle était considérée par les Egyptien de l'antiquité comme une panacée. Les nombreuses vertus thérapeutiques d'huile de cette plante semblaient déjà être connues. Pour preuve, des archéologues ont découvert un flacon d'huile de nigelle dans la tombe de ce pharaon, d'où l'attribution du nom de « remède des Pharaons », « trésor des Pharaons ». Chez les Grecs anciens, la nigelle était considérée comme un remède précieux dans le traitement des affections hépatiques et digestives. (Ghedira et Le Jeune, 2010).

En fait, cette plante a occupé une place spéciale pour son grand spectre d'application médicale dans la civilisation islamique, dû au proverbe du Prophète Mohamed satisfaction et salut de Dieu sur lui, avait dit : « Soignez-vous en utilisant la graine noire c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort ». Pour cette raison, plusieurs savants musulmans s'intéressèrent à cette graine (Meziti, 2009).

2.7 Toxicité

La toxicité de la *nigelle* est bien connue par la plupart des herboristes. En effet, sont utilisations est seulement à faible dose, que ce soit par la voie interne, externe, en fumigation ou en inhalation. Un surdosage des graines de *Nigella sativa* peut être mortel (Zaghlol et al., 2012).

Le surdosage thérapeutique peut provoquer des avortements. Cette toxicité, comme celles de la plupart des espèces de la famille des renonculacées, est due essentiellement à la présence de forte quantité de saponines et d'alcaloïdes dans les graines de *Nigelle* (Meziti, 2009).

Tenekoon et al. (1991), ont étudié la toxicité des extraits aqueux et alcooliques de *Nigella sativa*. Les concentrations plasmatiques de γ -glutamyl transférase (GGT) et de l'alanine aminotransférase (ALAT) ont été augmentées chez le rat après un traitement oral durant 14 jours ; cependant aucune anomalie histologique n'a été observée chez ces rats (Tenekoon et al., 1991; Meziti, 2009).

2.8 Propriétés pharmacologie de *Nigella sativa*

2.8.1 Propriétés antimicrobiennes

L'extrait de *Nigella sativa* (NSE) aurait une activité antibactérienne efficace contre les espèces Gram-positives (*Staphylococcus aureus*) et Gram-négatives (*Pseudomonas aeruginosa*

et *Escherichia coli*). L'extrait a montré un effet synergique avec la streptomycine et la gentamycine et a également montré une action additive avec la spectinomycine, l'érythromycine, la tobramycine, la doxycycline, le chloramphénicol, l'acide nalidixique, l'ampicilline, la lincomycine et l'association sulfaméthoxazole-triméthoprim. Ces résultats suggèrent l'efficacité antimicrobienne de l'extrait (**Hanafy et Hatem, 1991**).

L'extrait méthanolique de la graine de *Nigella sativa* présente une zone d'inhibition plus importante pour les bactéries Gram-positives (*Streptococcus pyogenes*) et Gram-négatives (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus vulgaris*) (**Hasan, 2013**). La TQ a révélé une activité antibactérienne significative principalement contre les cocci à Gram positif avec des valeurs de CMI allant de 8 à 32 µg / mL a montré la concentration minimale d'inhibition du biofilm à 22 et 60 µg / mL pour *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, respectivement (**Chaieb et al., 2011**).

L'effet de l'huile essentielle et de l'extrait de *Nigella sativa* principalement TQ a prouvé sa puissante activité antifongicide sur différentes souches de dermatophytes comme *Trichophyton entagrophytes*, *Microsporium canis* et *Microsporium gypseum* (**Mahmoudvand et al., 2014**).

L'extrait aqueux de *Nigella sativa* présente un effet inhibiteur contre la candidose et l'étude valide également qu'une diminution de 5 fois du *candidat* dans les reins, 8 fois dans le foie et 11 fois dans la rate a été observée chez les souris post-traitées (**Khan et al., 2003**). Deux nouvelles défensines Ns-D1 et Ns-D2 ont été isolées et séquencées à partir de graines de *Nigella sativa*. Ces défensines présentent une forte activité antifongique vis-à-vis de plusieurs champignons phytopathogènes (**Rogozhin et al., 2011**).

2.8.2 Propriétés antioxydantes *in vitro* et *in vivo*

Parmi les différentes études qui ont été menées pour évaluer les effets des graines noires, la plupart des études se sont concentrées sur leurs propriétés antioxydantes *in vivo* et *in vitro*.

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 antioxydante a été confirmée par d'autres tests [Essai du DPPH (diphenyl-1-picrylhydrazyl), peroxydation lipidique non enzymatique et l'essai du désoxyribose] (**Burits et Bucar, 2000**).

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

A côté de l'huile, qui a été largement étudiée pour ses propriétés 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 et Imaizumi (1998) ; Thippeswamy et Akhilender (2005) ont investigué les propriétés anti-oxydantes de trois variétés de cumin dont *Nigella sativa*.

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 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* (Merali 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 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-WahhabetAly, 2005).

2.8.3 Effets sur le système immunitaire

Les graines de *Nigella sativa* présentent in vitro des propriétés immunopotentialisatrices des lymphocytes T humains. En effet, les extrait des graines activent la sécrétion d'Interleukine-3 (IL3) et augmentent la production de l'IL-1 β par les lymphocytes T, ce qui indique un effet stimulateur sur les macrophages, soit direct ou via IL-1 β (Haq et al., 1995). Des études ultérieures ont montré que les protéines isolées de la graine entière sont responsable d'un effet

stimulant sur la production de cytokine TumorNecrosis Factor alpha (TNF- α) ainsi que la prolifération des lymphocytes en culture (**Haq et al., 1995**).

En outre, la plupart des sujets qui ont été traités par l'huile de *Nigella sativa* pendant quatre semaines ont montré une augmentation de 55% des cellules CD4 et CD8, et 30% des cellules naturel killer (NK) (**Salem, 2005**).

2.8.4 Propriétés anti-inflammatoires et analgésiques

Plusieurs auteurs ont étudié l'éventuelle activité analgésique et anti-inflammatoire d'extraits ou de composés purs issus de *Nigella sativa L.* En effet, l'huile fixe de cette plante possède une action antinociceptive importante due à la présence d'un principe opioïde (**Khanna, 1993**).

Cette action est antagonisée par la naloxone. Des études plus approfondies ont démontré que l'action antinociceptive peut être également engendrée par la thymoquinone aussi bien que l'huile fixe par activation indirecte des récepteurs super spinaux μ et κ (**Hosseinzadeh et Parvardeh, 2004**).

Ghannadi et al. (2005), ont montré que les polyphénols de *Nigella sativa* disposent de propriétés antiinflammatoires et analgésiques chez le rat et la souris. La thymoquinone s'est avérée comme un puissant inhibiteur de la synthèse des éicosanoïdes notamment la thromboxane B2 et leucotriène B4 par l'inhibition respective des cyclooxygénase et lipoxygénase.

Partie II :
Expérimentale
Traitement d'articles

Chapitre 2 :
Matériels et méthodes

Suite aux conditions sanitaires à cause de la pandémie mondiale du Covid-19, la présente étude vise à analyser deux articles.

1. Problématique :

Nigella sativa est connue pour divers effets bénéfiques, l'activité antimicrobienne a été largement étudiée, soit en tant que développement possible de remèdes pharmacologiques, soit en tant qu'additif alimentaire.

L'objectif de ces études est l'évaluation de pouvoir antimicrobien de huile essentielle, l'extrait acétate d'éthyle, l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique de graines de *Nigella sativa*.

2. Matériel végétale :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des graines de *Nigella sativa*.

3. Matériel biologique :

L'activité antimicrobienne des extraits étudiés a été testée sur 10 souches bactériennes et 04 souches fongiques (tableau1).

Souches bactériennes	Souches fongiques
Bactérie a Gram(+) : <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923) <i>Entérocooccus faecalis</i> (ATCC49452) <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus intermedius</i> <i>Entérocooccus faecalis</i> Bactérie a Gram(-) : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853) <i>Escherichia coli</i> (ATCC25922) <i>Escherichia coli</i> <i>Entérobactersp</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>



LIFE SCIENCES GROUP

INTERNATIONAL JOURNAL OF
Veterinary Science and Research

ISSN: 2640-7604

DOI: <https://dx.doi.org/10.17352/ijvnr>Saïd Derbal^{1*} and Abdellatif Niar²¹Institute of Veterinary and Agricultural Sciences,
University of Batna 1, 05000, Algeria²Faculty of Natural and Life Sciences, University of
Tiaret, 14000, Algeria

Received: 23 April, 2019

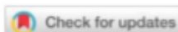
Accepted: 24 May, 2019

Published: 25 May, 2019

*Corresponding author: Saïd Derbal, Institute of Veterinary and Agricultural Sciences, University of Batna 1, 05000, Algeria, Tel: +213 773258207; E-mail: saïdderbal19@gmail.com

<https://www.peertechz.com>

Keywords: Honey; *Nigella sativa* L.; Antibacterial activity; Bacteria; Animal wound



Research Article

Antibacterial activity of honey and *Nigella sativa* L. seed extracts against animal wound bacteria

Abstract

This study was designed to evaluate the antibacterial activity of Algerian honey and some extracts of *Nigella sativa* L. seeds against animal wound bacteria. To do this, the preparation of *Nigella sativa* L. seed extracts was carried out by macerating the seed powder in increasingly polar solvents (ethyl acetate, ethanol and methanol). The antibacterial activity of honey and *Nigella sativa* L. seed extracts against the bacterial isolates was studied by Agar Well Diffusion Assay. The results showed that the different honey concentrations (20%, 50%, 70% and 100% v/v) were found to be active against all the bacterial isolates. The different *Nigella sativa* L. seed extracts showed a variable activity at the concentration 300 mg/mL against the bacterial isolates. Ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds was found to be active against all the bacterial isolates. Methanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds was found to be active against all the bacterial isolates except *Escherichia coli*. Also, ethyl acetate extract of *Nigella sativa* L. seeds was found to be active against all the bacterial isolates except *Enterococcus faecalis*. In conclusion; Algerian honey (of the region of El-Eulma) and ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds can be used as an alternative

This article was downloaded by: [Anadolu University]

On: 23 December 2014, At: 22:47

Publisher: Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Journal of Essential Oil Bearing Plants

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.tandfonline.com/loi/teop20>

Phytochemical Composition, Antioxidant, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* L. Essential Oil

Mohsen Kazemi^a

^a Department of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Science and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Published online: 23 Dec 2014.



[Click for updates](#)

To cite this article: Mohsen Kazemi (2014) Phytochemical Composition, Antioxidant, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* L. Essential Oil, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17:5, 1002-1011, DOI: [10.1080/0972060X.2014.914857](https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.914857)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2014.914857>

Article N°01 :**1. Le titre d'article :**

Activité antibactérienne des extraits de miel et de graines de *Nigella sativa* vis-à-vis des infections bactériennes des plaies des animaux.

2. Les activités réalisées dans ce travail :

La préparation des extraits de *Nigella sativa* a été réalisée par la macération de la poudre de graines dans des solvants polaires (acétate d'éthyle, éthanol et méthanol). L'activité antibactérienne des extraits de graines de *Nigella sativa* a été étudiée par la méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits).

Cette étude comprend les étapes suivantes :

- Isolement des bactéries.
- Extraction de la poudre de graines de *Nigella sativa*.
- Détermination du rendement en pourcentage
- Préparation de l'inoculum selon la méthode décrite par **Kamal et al.,(2010)**.
- Evaluation de l'effet antibactérien des extraits de graines de *Nigella sativa* par la méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits) selon le protocole décrit par **Kamal et al.,(2010)**.

3. Le protocole suivi :**3.1. Préparation de l'extrait :**

- Nettoyer, laver, sécher les graines de *Nigella sativa* à l'air et broyer avec un mortier en poudre moyennement fine.
- Macérer 50g de poudre de graines dans 500ml des différents solvants (acétate d'éthyle, éthanol et méthanol) pendant deux semaines à température ambiante, avec agitation.
- Filtrer par des papiers filtre.
- Evaporer au rotavapeur à 50°C et conservés à 4° à l'obscurité jusqu'à l'utilisation.

3.2. Evaluation de l'effet antibactérien de *Nigella sativa* :

La méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits) a été utilisée pour la détermination de l'activité antibactérienne, *in vitro* des extraits de graines de *Nigella sativa*

Article N°02 :**1. Le titre d'article :**

Composition phytochimique, activité antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobienne de l'huile essentielle de *Nigella sativa*.

2. Les activités réalisées dans ce travail :

Le travail comprend les étapes suivantes :

- Extraction de l'huile essentielle.
- Analyse d'huiles essentielles par une chromatographie GC-MS.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro* de l'huile essentielle de *Nigella sativa* vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide / fongicide (CMB/CMF).

3. Le protocole suivi :**3.1. Préparation de l'extrait :**

- Broyage des graines de *Nigella sativa*.
- hydro distillation pendant 3 heures de la poudre dans un appareil de type Clevenger selon la méthode recommandée par le Pharmacopée Européenne (1975)
- Séchage de l'huile essentielle en ajoutant de sulfate de sodium anhydre (NA₂ SO₄).
- Filtration et conservation à +4°C jusqu'à l'utilisation.

3.2. Activité antimicrobienne :

- Déterminer de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide / fongicide (CMB/CMF) par la méthode de microdilution en microplaques décrites par **Douk et al., (1995)** :

10 µl de la suspension bactérienne (10⁵ ufc/ml) et fongique (10⁴ ufc/ml) ont été inoculées dans des puits contenant 100 µl de bouillon (TSB pour bactéries, et le milieu SDB pour les champignons). Ensuite l'huile essentielle est distribuée dans chaque puits à des concentrations différentes, des séries de dilutions ont été effectuées. La microplaque est couverte et incubée à 37°C pendant 24 h à 48h. La lecture se fait à l'œil nu après l'ajout de 40µl de Biodonrot Violet de trazolium (INT) de 0,2 mg/ml après l'incubation à 37°C pendant 30 min sachant que la CMI est la plus faible concentration d'extrait testée, à laquelle aucun trouble visuel n'est observé.

Chapitre 3 :
Résultats et discussions

Article 01 :

Les résultats obtenus de rendement des extraits de graines de *Nigella sativa* sont représentés dans le graphe suivant :

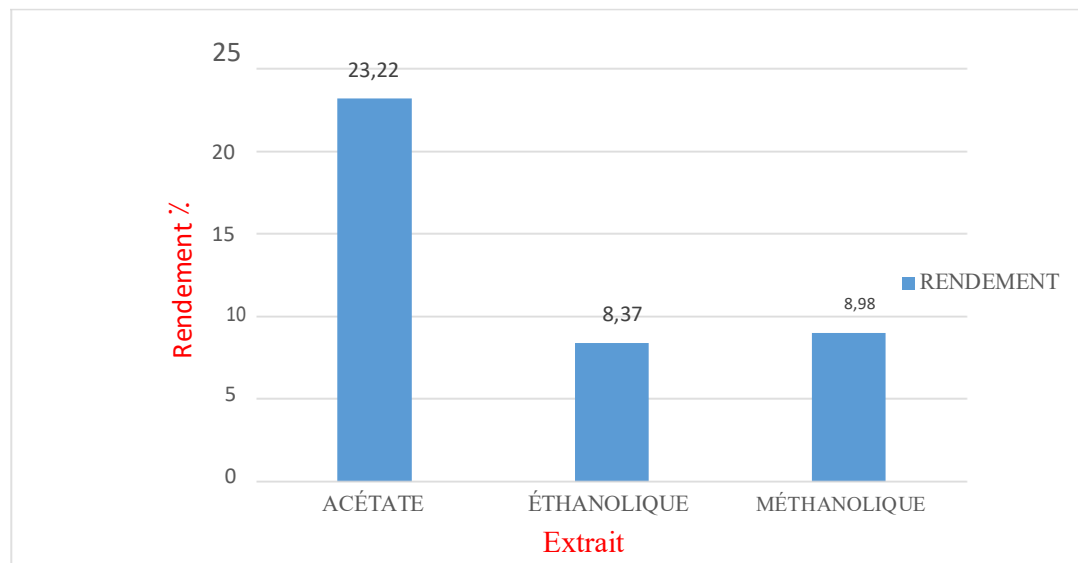


Figure04 : Rendement de l'extraits de graines de *Nigella sativa*.

Ces résultats montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle (par rapport au poids de la poudre) a donné un meilleur rendement (23,22%), par rapport à l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique qui sont moins élevés.

Ces résultats d'extractions sont différents de ceux rapportés par d'autres auteurs. La différence quantitative entre les rendements d'extraction est attribuée à la différence méthodologique d'extraction. De plus, le produit d'extraction varie en termes de qualité, de quantité et de composition en fonction du climat, de la composition du sol, de l'organe végétal, de l'âge (**Bakkali et al., 2008**).

Les résultats obtenus de l'effet antibactérien des extraits de graines de *Nigella sativa* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Effet antibactérien des extraits de graines de *Nigella sativa*

Bactéries	Diamètre des zones d'inhibitions (mm)		
	Extrait acétate d'éthyle	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique
<i>Escherichia coli</i>	10 ± 0	10 ± 0	0
<i>Entérobactersp.</i>	13,66 ± 0,57	11,66 ± 0,57	11,66 ± 0,57
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 ± 1	10,66 ± 1,15	12,66 ± 0,57
<i>Staphylococcus intermedius</i>	15,66 ± 0,57	12 ± 1	13,66 ± 0,57
<i>Entérocooccus faecalis</i>	0	12,66 ± 0,57	12,33 ± 1,15

Les résultats correspondent à l'activité antibactérienne de différents extraits de graines de *Nigella sativa* et qui montrent une efficacité variable. Cette dernière est en fonction de la nature du solvant et des molécules extraites.

Nous pouvons constater que l'extrait acétate d'éthyle a donné la meilleure inhibition vis-à-vis des souches bactériennes étudiées à l'exception de *Entérocooccus faecalis*, suivi par l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique.

Il en ressort de cette analyse que chaque composé agit différemment sur les microorganismes. De ce fait, une étude plus approfondie sera nécessaire sur la purification du principe actif de ces extraits, afin d'ouvrir la voie au développement de nouveaux médicaments potentiels pour traiter des infections bactériennes et fongiques opportunistes résistantes.

Nigella sativa constitue donc un réservoir de métabolites ayant un pouvoir antibactérien.

Article02 :

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 04 : la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide / fongicide (CMB/CMF).

Bactéries	Huile essentielle (g /ml)		Antibiotique (streptomycine)	
	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 49452)	5±0.17		20±0.1	
	5±0.64		40±0.86	
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	8±0.65		100±0.34	
	10±0.87		200±0.86	
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	2.5±0.3		20±0.59	
	2.5±0.0		40±08	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	8±0.54		60±0.7	
	10.96±00		250±0.1	
<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC15313)	5±0.12		15±0.71	
	5±0.00		20±0.86	
Champignons	Huile essentielle (g/ml)		Antifongique (Fluconazole)	
	CMI	CMF	CMI	CMF
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	2±0.6		6±0.3	
	1±0.7		4±0.3	
<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13803)	5±0.1		6±0.1	
	2±0.2		4±0.1	
<i>Aspergillus niger</i> (ATCC 16404)	5±0.4		6±0.2	
	2±0.6		4±0.6	
<i>Aspergillus fumigatus</i> (ATCC 46645)	5±0.2		5±0.8	
	2±0.7		4±0.3	

D'après ces résultats, le criblage de l'activité antimicrobienne *in vitro* de l'huile *N. sativa* a été étudié par la détermination de la concentration minimale inhibitrice. La CMI est un critère d'importance majeure. Elle est jugée comme étant la concentration la plus basse rapportée de l'extrait pour donner une inhibition complète des bactéries et les champignons testés après 24 à 48 heures d'incubation (aucun trouble n'est observé). La CMI a été déterminée pour les différentes souches microbiennes.

L'huile essentielle de *Nigella sativa* a présenté une activité antimicrobienne significative contre toutes les souches testées. Les valeurs d'inhibition variaient d'une souche à une autre.

Nous pouvons constater que *Candida albicans* et *Escherichia coli* sont les microorganismes les plus sensibles, avec la plus faible CMI (2 et 2.5g /ml) en présence de l'huile essentielle de graines de *Nigella sativa*.

A l'inverse, d'autres études ont montré que les bactéries les plus sensibles à l'huile essentielle de *Nigella sativa* sont les bactéries à Gram positif tels que les études de **Mammad et al. (2017)**, ces résultats peuvent s'expliquer par la différence structurelle de la paroi des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Une autre étude réalisée par **Balentine et al. (2006)**, indique que la sensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* peut s'expliquer par la probabilité de la sensibilité des bactéries à Gram positif aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et aux extraits naturels due à leurs absence de la membrane externe.

Certaines études indiquent que l'huile essentielle de *Nigella sativa* a une activité antibactérienne significative contre *Listeria monocytogenes*. L'inhibition est deux fois plus importante que celui de la gentamicine (**Manoj et al., 2005**).

La démonstration de l'activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif peut être le signe de la présence d'un principe actif à large spectre et ça sera un grand avantage dans la lutte contre de nombreux agents pathogènes très fréquents ces derniers temps (**Doughari, 2006**).

Les huiles essentielles des graines de *Nigella sativa* ont un large spectre d'inhibition vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques étudiées.

Conclusion et perspectives

Conclusion et Perspectives

Nigella sativa est une plante herbacée utilisée dans la médecine, cultivée dans plusieurs régions du monde surtout dans le bassin méditerranéen et en Inde.

En raison de la situation sanitaire liée au Covid-19, nous avons analysé deux articles sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de quelques extraits (acétate d'éthyle, méthanolique éthanolique et huile essentielle) des graines de la plante *Nigella sativa* vis-à-vis des souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif et des souches fongiques.

Les résultats correspondent à l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion de différents extraits de graines de *Nigella sativa* montrent une efficacité variable, l'extrait acétate d'éthyle a donné la meilleure inhibition, suivi par l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique.

Les résultats de l'activité antibactérienne par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ont montré que l'huile essentielle de graines de *Nigella sativa* a présenté une activité antimicrobienne significative contre toutes les souches testées. *Candida albicans* et *Escherichia coli* sont les microorganismes les plus sensibles testés, avec les plus faibles CMI, sont de l'ordre 2 g/ml et 2.5g/ml.

En termes de perspectives, d'autres études approfondies sont nécessaires et se résument dans :

- Faire une analyse photochimique quantitative et qualitative pour connaître la composition générale de la plante.
- Utiliser des méthodes plus performantes pour isoler les molécules bioactives et tester leurs activités.
- Evaluer l'activité antimicrobienne par des essais *in-vivo*.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- ❖ **Abdel-Wahhab, M. A., & Aly, S. E. (2005).** Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. *Journal of Applied Toxicology : An International Journal*, 25(3), 218-223.
- ❖ **Antuono, F., Hamaza, K. (2002).** Composition of *Nigella sativa* and *Nigella damascène* from Egypt. *Plantamedica*. 27: 142 -149.
- ❖ **Aymonon, G.G. (2014).** La grande flore en couleurs de Gaston Bonnier en 1990, Bulletin de la Société Botanique de France. *Lettres Botaniques* 137 :243-244.
- ❖ **Al-Gaby, A. M. A. (1998).** Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with *Nigella sativa* (black cumin) cake protein. *Food/Nahrung*, 42(05), 290-294.
- ❖ **Al-Jassir, M. S. (1992).** Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chemistry*, 45(4), 239-242.
- ❖ **ATTA-UR-RAHMAN, A. U. R., Malik, S., Hasan, S. S., Choudhary, M. I., NI, C. Z., & Clardy, J. (1995).** *Nigellidine*-A New Indazole Alkaloid from the Seeds of *Nigella sativa*. *ChemInform*, 26(30), no-no.
- ❖ **Atta U.R., Malik S., Cun-Heng H., Clardy J. (1985a).** Isolation and structure détermination of *nigellicine*, a novel alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron letters*. 26: 2759-2762.
- ❖ **Atta U.R., Malik S., Ahmed S., Choudhary M.I., Habib-ur-Rehman. (1985b).** *Nigellimine-N-oxide*-a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Hétérocycles*. 23: 935-955.
- ❖ **Atta U.R., Malik S., Zaman K. (1992).** *Nigellimine*, a new isoquinoline from the seeds of *Nigella sativa*. *Journal of natural products*. 55: 676-678
- ❖ **Atta M.B., Imaizumi K. (1998).** Antioxidant activity of *Nigella* (*Nigella sativa* L.) seeds extracts. *JAPAN Oil Chemists' Society*. 47: 49-54.

B

- ❖ **Badary, O. A., Taha, R. A., Gamal El-Din, A. M., & Abdel-Wahab, M. H. (2003).** Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug and chemical toxicology*, 26(2), 87-98.
- ❖ **Benkaci-Ali, F. (2007).** *Etude de la composition chimique de la Nigella sativa originaire d'Algérie* (Doctoral dissertation, Alger).

Références bibliographiques

- ❖ **Benkaci–Ali, F., Baaliouamer, A., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2007).** Chemical composition of seed essential oils from Algerian *Nigella sativa* extracted by microwave and hydrodistillation. *Flavour and fragrance journal*, 22(2), 148-153.
- ❖ **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc – Lavoisier, Paris, *Nigella sativa* seeds of Egypt. *J PharmSci UAR* (3), 121-133
- ❖ **Bousbia, N. (2004).** Extraction et Identification de Quelques Huiles Essentielles (Nigelle. Coriandre, Origan, Tym, Romarin) : Etude de leurs activités antimicrobiennes. *Th. magister, INA, Alger.*
- ❖ **Burits, M., & Bucar, F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*, 14(5), 323-328.

C

- ❖ **Canonica, L., Jommi, G., Scolastico, C., & Bonati, A. (1963).** The pharmacologically active principle in *Nigella sativa*. *Gazz Chim Ital*, 93(1), 404-407.
- ❖ **Cemek, M., Enginar, H., Karaca, T., & Ünak, P. (2006).** *In Vivo* Radio protective 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(6), 1691-1696.
- ❖ **Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C., & Attia, H. (2007).** *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food chemistry*, 101(2), 673-681.
- ❖ **Chaieb, K., Kouidhi, B., Jrah, H., Mahdouani, K., & Bakhrouf, A. (2011).** Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. *BMC complementary and alternative medicine*, 11(1), 1-6.

E

- ❖ **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.

G

Références bibliographiques

- ❖ **Ghedira, K. (2006).** La nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie*, 4(5), 220.
- ❖ **Ghannadi, A., Hajhashemi, V., & Jafarabadi, H. (2005).** An investigation of the analgesic and anti-inflammatory effects of *Nigella sativa* seed polyphenols. *Journal of medicinal food*, 8(4), 488-493.
- ❖ **Guignard J.L. (2001).** In : Botanique systématique moléculaire. 12 ème Edition Masson (Paris), P : 304
- ❖ **Ghedira, K., & Le Jeune, R. (2010).** Huile de nigelle cultivée, *Nigella sativa* L. (Renonculacée). *Phytothérapie*, 8(2), 124-128.
- ❖ **Greenish, H. G. (1880).** Contribution to the chemistry of *Nigella sativa*. *Pharmac. J. Trans*, 10, 909-911.

H

- ❖ **Hanafy, M. S. M., & Hatem, M. E. (1991).** Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *Journal of ethnopharmacology*, 34(2-3), 275-278.
- ❖ **Hasan, NA, Nawahwi MZ, Malek HA. (2013).** Antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed extract. *Sains Malays*.42(2) : 143-147.
- ❖ **Houghton, P. J., Zarka, R., de las Heras, B., & Hoult, J. R. S. (1995).** Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta medica*, 61(01), 33-36.
- ❖ **Haq, A., Abdullatif, M., Lobo, P. I., Khabar, K. S., Sheth, K. V., & Al-Sedairy, S. T. (1995).** *Nigella sativa*: effect on human lymphocytes and polymorph nuclear leukocyte phagocytic activity. *Immunopharmacology*, 30(2), 147-155.

K

- ❖ **Khan, M. A. U., Ashfaq, M. K., Zuberi, H. S., Mahmood, M. S., & Gilani, A. H. (2003).** The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17(2), 183-186.
- ❖ **Kokoska L. (2011).** Chemistry and Biological Activity of *Nigella* Genus: The antimicrobial and anti-inflammatory effects of seed extracts, essential oils and compound of six *Nigella* species. Edition: LAP LAMBERT AcademicpublishingGmbH& Co.KG. U.S.A. pp 1.

Références bibliographiques

- ❖ **Kumara, SS. And Huat BT. (2001).** Extraction, isolation and characterisation of antitumor principle, alpha-hederin, from the seeds of *Nigella sativa*. *Planta Med*, 67, pp. 29-32.
- ❖ Kumara, S. S. M., & Huat, B. T. K. (2001). Extraction, isolation and characterisation of antitumor principle, α -hederin, from the seeds of *Nigella sativa*. *Planta medica*, 67(01), 29-32.
- ❖ **Khanna T., Zaidi F.A., Dandiya P.C. (1993).** CNS and analgesic studies on *Nigella sativa*. *Fitoterapia*. 64: 407-410.

M

- ❖ **Meziti, A. (2009).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* mémoire Pour l'obtention du Diplôme de magister en biochimie appliquée Université El-Haj Lakhdar Batna, p. 21-32
- ❖ **Mokkedem A. (2004).** Guide pratique des cultures en secs de quelques plantes médicinales, condimentaire et aromatiques. INRAA. El-harrach. Pp : 10.
- ❖ **Moretti, A., D'Antuno, F.L., Elementi, S. (2004).** Essential oil of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L., seed. *Journal of Essential Oil Research* 16 : 182– 183.
- ❖ **Mahfouz M., & El-Dakhakhny M. (1960).** The isolation of a crystalline active principle from *Nigella sativa* seeds. *J Pharm Sci UAR* (1), 9-19.
- ❖ **Meral I., Yener Z., Kahraman T., Mert N. (2001).** Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defence system and liver damage in experimentally- induced diabetic rabbits. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 48: 539-599.
- ❖ **Merfort I., Wray V., Barakat H., Hussein S.A.M., Nawwar M.A.M., Willuhn G. (1997).** Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochemistry*. 46: 359- 363.
- ❖ **Morikawa T., Xu F., Kashima Y., Matsuda H., Ninomiya K., Yoshikawa M. (2004a)** Novel dollabellane-type diterpene alkaloids with lipid metabolism promoting activities from the seeds of *Nigella sativa*. *Organic letters*. 6: 869- 872.
- ❖ **Morikawa T., Xu F., Ninomiya K., Matsuda H., Yoshikawa M. (2004b).** *Nigellamines* A3, A4, A5 and C, new dolabellane-type diterpene alkaloids, with lipid metabolism promoting.
- ❖ **Mahmoudvand H, Sepahvand A, Jahanbakhsh S, Ezatpour B, Ayatollahi Mousavi SA. (2014).** Evaluation of antifungal activities of the essential oil and various extracts of *Nigella*

Références bibliographiques

sativa and its main component, thymoquinone against pathogenic dermatophyte strains. J Mycol Med. 24(4) :e155–161.

R

- ❖ **Ramadan M.F., Mörsel J.T. (2002).** Caractérisation of phospholipid composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil. Nahrung Food. 46: 240-244
- ❖ **Rogozhin EA, Oshchepkova YI, Odintsova TI, et al. (2011).** Novel antifungal defensins from *Nigella sativa* L. seeds. Plant Physiol Biochem. 49(2) :131–137.

S

- ❖ **Salem M.L. (2005).** Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. Seed. International Immunopharmacology. 5: 1749-1770.

T

- ❖ **Tuter M., Aksoy H.A., Ustun G., Riva S., Secundo F., Ipekler S. (2003).** Partial purification of *Nigella sativa* L. seed lipase and its application in hydrolytic reactions. Enrichment of γ -linolenic acid from borage oil. Journal of the American Oil Chemists' Society. 80: 237-241.
- ❖ **Tuter, M., Secundo, F., Riva, S., Aksoy, H. A., & Ustun, G. (2003).** Partial purification of *Nigella sativa* L. seed lipase and its application in transesterification reactions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(1), 43-48.
- ❖ **Tenekoon K., Jeevathayaparan S., Kurukulasooria A., & Karunanayake E. (1991).** Possible hepatotoxicity of *Nigella sativa* seeds and *Dregea volubilis* leaves. J Ethnopharmacol. 31: 283-289.
- ❖ **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.

Annexes



LIFESCIENCE GROUP

INTERNATIONAL JOURNAL OF
Veterinary Science and Research

ISSN: 2640-7604

DOI: <https://dx.doi.org/10.17352/ijvsr>

Saïd Derbal¹* and Abdellatif Niar²

¹Institute of Veterinary and Agricultural Sciences, University of Batna 1, 05000, Algeria

²Faculty of Natural and Life Sciences, University of Tiaret, 14000, Algeria

Received: 23 April, 2019

Accepted: 24 May, 2019

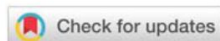
Published: 25 May, 2019

***Corresponding author:** Saïd Derbal, Institute of Veterinary and Agricultural Sciences, University of Batna 1, 05000, Algeria, Tel: +213 773258207;

E-mail: saidderbal19@gmail.com

<https://www.peertechz.com>

Keywords: Honey; *Nigella sativa* L.; Antibacterial activity; Bacteria; Animal wound



Research Article

Antibacterial activity of honey and *Nigella sativa* L. seed extracts against animal wound bacteria

Abstract

This study was designed to evaluate the antibacterial activity of Algerian honey and some extracts of *Nigella sativa* L. seeds against animal wound bacteria. To do this, the preparation of *Nigella sativa* L. seed extracts was carried out by macerating the seed powder in increasingly polar solvents (ethyl acetate, ethanol and methanol). The antibacterial activity of honey and *Nigella sativa* L. seed extracts against the bacterial isolates was studied by Agar Well Diffusion Assay. The results showed that the different honey concentrations (20%, 50%, 70% and 100% v/v) were found to be active against all the bacterial isolates. The different *Nigella sativa* L. seed extracts showed a variable activity at the concentration 300 mg/mL against the bacterial isolates. Ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds was found to be active against all the bacterial isolates. Methanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds was found to be active against all the bacterial isolates except *Escherichia coli*. Also, ethyl acetate extract of *Nigella sativa* L. seeds was found to be active against all the bacterial isolates except *Enterococcus faecalis*. In conclusion; Algerian honey (of the region of El-Eulma) and ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds can be used as an alternative remedy for the treatment of different animal wounds.

Introduction

Although honey is known as a food, there is growing interest in the medicinal properties of honey and its role in the treatment of many different health problems. In traditional medicine, honey has been recognized all over the world for its healing properties for the skin. The ancient Greeks and Egyptians, for example, used the topical application of honey to treat wounds and burns of the skin, and traditional Persian medicine has documented that honey is effective in treating wounds, eczema and inflammation [1,2].

Nigella sativa L. (Black-seed) is an annual herb of the Ranunculaceae family and has been used traditionally for centuries in the Middle East, North Africa, Far East and Asia for the treatment of various diseases [3]. In Saudi Arabia, its oil is used externally for joint stiffness and pain, as well as for asthma and eczema [4]. In Pakistan, Black-seed is used to treat fungal and bacterial infections [5].

The cutaneous wounds are lesions of mechanical origin which are characterized by a solution of continuity of the skin. Accidental wounds result from the action of an animate or inanimate physical agent of the external environment. There are several of accidental causes.

The degree of bacterial contamination and the type of flora conditions the management of the wound. Complications of septic nature are among the various pathological changes of wounds. The treatment of wounds is very varied, the knowledge of their positive or detrimental influences on wound healing makes it possible to choose a therapeutic scheme adapted to each situation. Also, any alteration of a phase of wound healing results in delayed healing. Evolutions of septic nature involve a more or less important infection of the wound. The purpose of the detersion phase is to remove bacteria, dead tissues and other contaminants that may interfere with wound healing. During evolution of septic nature, it is this phase that is concerned. As long as an infection persists, this phase is prolonged, thus delaying the placement of the granulation tissue.

In wounds, the bacteria of the cutaneous flora are found naturally at the level of the wound and will multiply. These bacteria are generally not pathogenic and their proliferation is normally controlled by the detersion phase. However, particular conditions may lead to significant proliferation and wound infection even with originally non-pathogenic bacteria. Transient species are occasionally encountered over a short period and in limited quantities on the surface of the epidermis. When it multiplies, this transient flora may present a pathogenic aspect like secondary invader or superinfecting agent.

are therefore part of the physiological evolution of wound.

When this colonization becomes pathological, it is the clinical infection. Bacterial colonization becomes critical when the host's defenses are outdated or ineffective, then the bacteria invade the cutaneous and subcutaneous tissues adjacent to the wound. The occurrence of infection depends on the number of bacteria, their virulence and pathogenicity factors, and host resistance. All factors influencing these three parameters may contribute to the development of an infection [6]. Many local factors may favor the development of an infection either by promoting bacterial proliferation or by decreasing the effectiveness of host defenses. If the organism can not control the bacterial multiplication, a bacteremia can appear and then eventually a septicemia depending on the general state of the animal. The complication becomes general and can lead to the death of the animal.

Repeated treatments (antibiotherapies, antiseptics) of cutaneous infections can modify the cutaneous flora and select resistant bacteria. The most frequent case is the selection of resistant staphylococci which secrete β -lactamases. Also, there is an increased development of resistance to each antibiotic introduced into clinical practice [7]. Wound infections caused by drug resistant organisms are common and result in increased costs, morbidity and mortality. Therefore, scientific efforts have been made to study and develop new compounds that can be used beyond traditional antibiotic therapy.

The antibacterial properties of honey and *Nigella sativa* L. have aroused great interest among researchers. In this research, the antibacterial activity of Algerian honey (of the region of El-Eulma) and some *Nigella sativa* L. seed extracts against animal wound bacteria, is evaluated.

Materials and Methods

Honey sample and *Nigella sativa* L. seeds

The honey used in this study was purchased from an apiary in El-Eulma (Algeria). The seeds of *Nigella sativa* L. were purchased from an herbal shop in El-Eulma (Algeria).

Bacterial isolates

Five bacteria were previously isolated from chronic wounds of domestic carnivores and were maintained at 4°C on nutrients agar slants. These bacterial isolates are: *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* and *Enterococcus faecalis*.

Extraction process

The seeds of *Nigella sativa* L. were cleaned, washed, air dried and ground with a mortar to medium fine powder. The extraction was carried out by macerating the seed powder in increasingly polar solvents (ethyl acetate, ethanol and methanol) following the method described by Shahid et al. (2013) [8].

Each of 50 g seed powder was macerated in 500 mL of a different solvent, for two weeks at room temperature, with

occasional agitation to facilitate extraction. The macerates were filtered on filter papers. The filtrates were evaporated using rotary evaporator (Heidolph®) at 50°C. The extracts were stored in sterile glass vials at 4°C until use.

Calculation of percentage yield

The different extracts were weighed and the percentage yield of each extract was calculated using the following equation:

$$\%Y = (Ew / Pw) \times 100. (\%Y: \text{percentage yield, } Ew: \text{extract weight, } Pw: \text{powder weight}).$$

Inoculum preparation

The inoculum was prepared following the method described by Kamal et al. (2010) [9]. Active cultures for each bacterial species were prepared by transferring a loopful of cells from the stock cultures to test tubes of nutrient broth. The inoculated tubes were incubated without agitation for 24 hours at 37°C. The cultures were diluted with fresh nutrient broth to achieve optical densities corresponding to 10⁶ cfu/mL.

Antibacterial effect of honey

The Agar Well Diffusion Method was used to test the antibacterial activity of honey following the protocol described by Akujobi and Njoku (2010) [10] with some modifications.

All media plates (9 cm in diameter) were prepared with Muller-Hinton agar. After agar solidification, the well (7 mm in diameter) was cut from the agar to produce a total of five wells per each agar plate. For test, four honey concentrations (20%, 50%, 70% and 100% v/v) were prepared using sterile distilled water. 100 μ L (10⁵ cfu) of each diluted bacterial suspension were inoculated on Muller-Hinton agar plates using sterile non-absorbent cotton swab. The inoculums were allowed to dry for 5 min. Then, 100 μ L of each honey concentration and sterile distilled water was added separately to each well of agar plate and allowed to diffuse at room temperature for 15-20 min. After incubation at 37°C for 24 hours, all plates were examined for any zones of growth inhibition and the diameter of these zones was measured.

The assay was repeated three times for each honey concentration. The antibacterial effect was recorded as the mean diameter of the resulting inhibition zones of growth in mm.

Antibacterial effect of *Nigella sativa* L.

The Agar Well Diffusion Method was used to test the antibacterial activity of *Nigella sativa* L. seed extracts following the protocol described by Kamal et al. (2010) [9] with some modifications.

All media plates (9 cm in diameter) were prepared with Muller-Hinton agar. After agar solidification, the well (7 mm in diameter) was cut from the agar to produce a total of four wells per each agar plate. For test, just one dose for each extract (30 mg/well) was prepared using DMSO as an organic

solvent. 100 μ L (10⁵ cfu) of each diluted bacterial suspension were inoculated on Muller-Hinton agar plates using sterile non-absorbent cotton swab. The inoculums were allowed to dry for 5 min. Then, 100 μ L of each extract solution and blank (DMSO) was added separately to each well of agar plate and allowed to diffuse at room temperature for 15-20 min. After incubation at 37°C for 24 hours, all plates were examined for any zones of growth inhibition and the diameter of these zones was measured.

The assay was repeated three times for each extract. The antibacterial effect was recorded as the mean diameter of the resulting inhibition zones of growth in mm.

Statistical analysis

The in-vitro antibacterial activity was carried in triplicate. The data were then subjected to Microsoft Office Excel 2010 software for statistical analysis. Analysis of variance (ANOVA) to a single factor is established followed by t-Test. All the data were given mean \pm standard deviation (SD). A probability value $P < 0.05$ was taken as significant.

Results and Discussion

Percentage yield

The results correspond to the percentage yield of *Nigella sativa* L. seed extracts are summarized in table 1.

The percentage yield of *Nigella sativa* L. seed extracts showed maximum amount of ethyl acetate extract 23.22% and

Table 1: Percentage yield of *Nigella sativa* L. seed extracts.

Extract	% Yield
Ethyl acetate	23,22
Ethanollic	8,37
Methanollic	8,98

minimum of ethanolic extract 8.37%. The percentage yield of methanolic extract was 8.98%.

These extraction yield results are different from those reported by other authors. The quantitative difference between the extraction yields is attributed to the methodological difference of extraction. Also, the extraction product varies in terms of quality, quantity and composition according to climate, soil composition, plant organ, age, etc. [11].

Antibacterial activity of honey

In this section, the antibacterial activity of different concentrations of honey against bacterial isolates from animal wounds, was studied. These bacterial isolates are Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* and *Enterococcus faecalis*) and Gram-negative (*Escherichia coli* and *Enterobacter sp.*).

The antimicrobial activity of honey can be the result of high sugar concentration, acidity, production of hydrogen peroxide,

flavonoids, phenols or other unidentified components present in honey [12]. Certain types of honey contain other bioactive components with antibacterial activity, including methylglyoxal, lysozyme and defensin-1 [13]. In addition, it is suggested that presence of different strains of *L. acidophilus* in honey obtained from different sources may contribute to the antimicrobial properties of honey [14]. When honey is diluted, an enzyme (glucose oxidase) is activated in honey and catalyses the slow production of hydrogen peroxide which generally is the major antibacterial factor in honey [15]. This antibacterial activity varies significantly from honey to honey [15]. Activity of hydrogen peroxide in undiluted honey is suppressed by the low pH of honey since the glucose oxidase enzyme has an optimum pH of 6.1 with a minimum activity of pH 5.5 and a maximum of pH 8 [16]. The antibacterial activity of honey depends on synergism between all the bioactive components and honey containing more than one active substance has a higher potency as an antimicrobial agent [17].

The results correspond to the antibacterial activity of honey are summarized in table 2.

All the bacterial isolates were found to be sensitive to all the honey concentrations but with varying degrees. The difference

Table 2: Antibacterial effect of honey against bacterial isolates.

Bacteria	Average diameter of zone of inhibition (mm)			
	20%	50%	70%	100%
<i>Escherichia coli</i>	9,66 \pm 1,15	11,66 \pm 2,08	12,33 \pm 1,15	19 \pm 1,73
<i>Enterobacter sp.</i>	13,66 \pm 0,57	13,66 \pm 1,52	14,33 \pm 2,51	15 \pm 2
<i>Staphylococcus aureus</i>	15,66 \pm 4,04	18 \pm 4,35	16,66 \pm 0,57	19 \pm 3,46
<i>Staphylococcus intermedius</i>	10,33 \pm 0,57	11,66 \pm 0,57	12 \pm 1	16,33 \pm 0,57
<i>Enterococcus faecalis</i>	13,66 \pm 0,57	12,33 \pm 0,57	12 \pm 0	14,33 \pm 0,57

Note: The results are represented by the mean \pm SD.

in sensitivity between these bacterial isolates was significant ($P < 0.05$) to each of the honey concentrations.

The highest sensitivity of all these bacterial isolates was observed with undiluted honey. This result is explained by the fact that the antimicrobial activity of undiluted honey depends on its high sugar content lowering the water activity and the dilution of honey will change its osmotic effect [16], its acid pH and its antibacterial effect [16,18]. The antibacterial effectiveness of diluted honey against the bacterial isolates suggesting the presence of antibacterial activity other than simple sugar-dependent hyperosmolarity.

The smallest zone of inhibition was observed with concentration 20% against *Escherichia coli* and its diameter was 09.66 \pm 1.15 mm. The largest zone of inhibition was observed with undiluted honey against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and the diameters of these zones of inhibition were 19 \pm 3.46 mm and 19 \pm 1.73 mm respectively.

Basualdo et al. (2007) [19], reported that *Staphylococcus aureus* was the most sensitive bacterium to several honey samples marketed in Argentina, but *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* were resistant. Also, Khalil et al. (2014)

[20], reported that *Staphylococcus aureus* was the most sensitive bacterium to different honey samples marketed in Pakistan and *Enterococcus faecalis* was also sensitive to these honey samples. In other study, Omafuvbe and Akanbi (2009) [21], reported that *Escherichia coli* was the most sensitive bacterium to some commercial Nigerian honey but *Staphylococcus aureus* was resistant.

There are no studies on the antibacterial activity of honey against *Staphylococcus intermedius* and *Enterobacter sp.*, except that of Al-Waili et al. (2013) [17], who reported that *Enterobacter aerogenes* was sensitive to honey from Saudi Arabia.

The variation between our data and earlier reports may be attributed to many factors which may influence the antimicrobial activity of honey. These factors include physico-chemical properties, botanical origin, entomological origin and symbioses with beneficial bacteria of honey [21].

Antibacterial activity of *Nigella sativa* L.

In this section, the antibacterial activity of some *Nigella sativa* L. seed extracts against bacterial isolates from animal wounds, was studied.

Polar solvents (ethanol and methanol) and a moderately polar solvent (ethyl acetate) were used to extract secondary metabolites from *Nigella sativa* L. seeds, that differ in polarity and structure, and thus different solvent extracts showed distinct biological properties.

The antibacterial activity of ethanolic, methanolic and ethyl acetate extracts of *Nigella sativa* L. seeds is largely attributable to TQ since Singh et al. (2014) [22] and Suresh Kumar et al. (2010) [23], reported that these extracts were rich in TQ. Halawani (2009) [24], Shohayeb and Halawani (2012) [25] and Jrah Harzallah et al. (2011) [26], demonstrated that this bioactive component has a very powerful antibacterial effect.

The results correspond to the antibacterial activity of different *Nigella sativa* L. seed extracts are summarized in table 3.

At concentration of 0.3 g/mL, ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds was found to be active against all the bacterial isolates. Ethyl acetate extract of *Nigella sativa* L. seeds was found to be active against all the bacterial isolates except

Enterococcus faecalis. The difference in sensitivity between the bacterial isolates was significant ($P < 0.05$) to each of these both extracts. Methanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds was found to be active against all the bacterial isolates except *Escherichia coli*. The difference in sensitivity between the bacterial isolates was not significant ($P > 0.05$) to this extract.

The largest zone of inhibition was observed with the ethyl acetate extract against *Staphylococcus intermedius* with a diameter of 15.66 ± 0.57 mm. The smallest zone of inhibition was observed with the ethanolic and ethyl acetate extracts against *Escherichia coli* with a diameter of 10 ± 0 mm.

Shahid et al. (2013) [8], reported that *Escherichia coli* was sensitive to methanolic and ethanolic extracts, but resistant to ethyl acetate extract of *Nigella sativa* L. seeds. *Staphylococcus aureus* was sensitive to methanolic, ethanolic and acetate ethyl extracts of *Nigella sativa* L. seeds. In other study, Mishra (2011) [27], reported that *Escherichia coli* was resistant to methanolic and ethanolic extracts, and sensitive to ethyl acetate extract of *Nigella sativa* L. seeds. *Staphylococcus aureus* was sensitive to methanolic, ethanolic and acetate ethyl extracts of *Nigella sativa* L. seeds. In the study of Sellami et al. (2013) [28], ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds was found to be inactive against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae*.

There are no studies on the antibacterial activity of methanolic, ethanolic and ethyl acetate extracts of *Nigella sativa* L. seeds against *Staphylococcus intermedius* and *Enterococcus faecalis*.

Negative results do not mean the absence of bioactive constituents; the active compounds may be insufficient to show activity with the applied concentration [29]. Indeed, the different sources of extracts, agro-climatic factor, manipulation of experiment and phytochemical ingredients in extract also contribute to the differences in obtained results [30].

Conclusion

The results demonstrate that Algerian honey (of the region of El-Eulma) can be used as a natural liquid dressing to treat infected animal wounds. Also, ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds is an effective antibacterial agent, which can be used as an alternative remedy for the treatment of infected animal wounds.

References

- Eteraf-Oskouei T, Najafi M (2013) Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: A review. *Iran J Basic Med Sci* 16: 731-742. [Link: https://tinyurl.com/y854cvqy](https://tinyurl.com/y854cvqy)
- Sepehr S (2010) The most important medicinal uses of honey, and its side effects in the book of the Canon by Avicenna, and in the modern medical literature: a comparative study. *J Api Prod Api Med Sci* 2: 43.
- Phillips JD (1992) Medicinal plants. *Biologist* 39: 187-191. [Link: https://tinyurl.com/y4amuz6f](https://tinyurl.com/y4amuz6f)
- Houghton PJ, Zarka R, De Las Heras B, Hoult JR (1995) Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in

Table 3: Antibacterial effect of *Nigella sativa* L. seed extracts against bacterial isolates.

Bacteria	Average diameter of zone of inhibition (mm)		
	Ethyl acetate extract	Ethanolic extract	Methanolic extract
<i>Escherichia coli</i>	10 ± 0	10 ± 0	0
<i>Enterobacter sp.</i>	13,66 ± 0,57	11,66 ± 0,57	11,66 ± 0,57
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 ± 1	10,66 ± 1,15	12,66 ± 0,57
<i>Staphylococcus intermedius</i>	15,66 ± 0,57	12 ± 1	13,66 ± 0,57
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	12,66 ± 0,57	12,33 ± 1,15

Note: The results are represented by the mean ± SD.



leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med* 61: 33-36. [Link: https://tinyurl.com/y22dv58c](https://tinyurl.com/y22dv58c)

5. Gilani AH, Aziz N, Khurram IM, Chaudhary KS, Iqbal A (2001) Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses. *J Pak Med Assoc* 51: 115-120. [Link: https://tinyurl.com/yxh8fq34](https://tinyurl.com/yxh8fq34)
6. Sibbald RG, Orsted H, Schultz GS, Coutts P, Keast D (2003) Preparing the wound bed: Focus on infection and inflammation. *Ostomy Wound Management* 49: 24-51. [Link: https://tinyurl.com/y3q7ora8](https://tinyurl.com/y3q7ora8)
7. Payne DJ, Gwynn MN, Holmes DJ, Pompliano DL (2007) Drugs for bad bugs: confronting the challenges of antibacterial discovery. *Nat Rev Drug Discov* 6: 29-40. [Link: https://tinyurl.com/yx9v34us](https://tinyurl.com/yx9v34us)
8. Shahid W, Durrani R, Iram S, Durrani M, Khan FA (2013) Antibacterial activity in-vitro of medicinal plants. *Sky J Microbiol Res* 1: 5-21. [Link: https://tinyurl.com/y2am8kgr](https://tinyurl.com/y2am8kgr)
9. Kamal A, Arif JM, Ahmad IZ (2010) Potential of *Nigella sativa* L. seed during different phases of germination on inhibition of bacterial growth. *J Biotechnol Pharm Res* 1: 9-13. [Link: https://tinyurl.com/y2wje4ek](https://tinyurl.com/y2wje4ek)
10. Akujobi CO, Njoku HO (2010) Bioassay for the determination of microbial sensitivity to Nigerian honey. *Global J Pharmacol* 4: 36-40. [Link: https://tinyurl.com/yxb8l5p3](https://tinyurl.com/yxb8l5p3)
11. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008) Biological effects of essential oils. *Food Chem Toxicol* 46: 446-475. [Link: https://tinyurl.com/y2wsuq6](https://tinyurl.com/y2wsuq6)
12. Bogdanov S (2012) Honey as nutrient and functional food. *Bee Product Sci* 2012: 1-28. [Link: https://tinyurl.com/yxzdyeq](https://tinyurl.com/yxzdyeq)
13. Kwakman PH, Zaat SA (2012) Antibacterial components of honey. *IUBMB Life* 64: 48-55. [Link: https://tinyurl.com/y4bby3u](https://tinyurl.com/y4bby3u)
14. Aween MM, Hassan Z, Muhialdin BJ, Eljamel YA, Al-Mabrok ASW, et al. (2012) Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* strains isolated from honey marketed in Malaysia against selected multiple antibiotic resistant (MAR) Gram-positive bacteria. *J Food Sci* 77: 364-371. [Link: https://tinyurl.com/yxvvr5v](https://tinyurl.com/yxvvr5v)
15. Molan PC (1992b) The antibacterial activity of honey: 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World* 73: 59-76. [Link: https://tinyurl.com/y42k5cxu](https://tinyurl.com/y42k5cxu)
16. Molan PC (1992a) The antibacterial activity of honey: 1. The nature of antibacterial activity. *Bee World* 73: 5-28. [Link: https://tinyurl.com/y6odl7r7](https://tinyurl.com/y6odl7r7)
17. Al-Waili N, Al-Ghamdi A, Ansari MJ, Al-Attal Y, Al-Mubarak A, et al. (2013) Differences in composition of honey samples and their impact on the antimicrobial activities against drug multiresistant bacteria and pathogenic Fungi. *Archives of Medical Research* 44: 307-316. [Link: https://tinyurl.com/y393n4wv](https://tinyurl.com/y393n4wv)
18. Molan PC (1996) Honey for the treatment of infections. *Bee Infor Med* 3: 6-7.
19. Basualdo C, Sgroy V, Finola MS, Marioli JM (2007) Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. *Vet Microbiol* 124: 375-381. [Link: https://tinyurl.com/y32qfma](https://tinyurl.com/y32qfma)
20. Khalil AT, Khan I, Ahmad K, Khan YA, Khan J, et al. (2014) Antibacterial activity of honey in north-west Pakistan against select human pathogens. *J Tradit Chin Med* 34: 86-89. [Link: https://tinyurl.com/y3vxaxef](https://tinyurl.com/y3vxaxef)
21. Omafuvbe BO, Akanbi OO (2009) Microbiological and physico-chemical properties of some commercial Nigerian honey. *Afr J Microbiol Res* 3: 891-896. [Link: https://tinyurl.com/y267xyz7](https://tinyurl.com/y267xyz7)
22. Singh S, Das SS, Singh G, Schuff C, De Lampasona MP, et al. (2014) Composition, in-vitro antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and oleoresins obtained from Black Cumin seeds (*Nigella sativa* L.). *BioMed Research International* 918209: 1-10. [Link: https://tinyurl.com/y5ywmpf5](https://tinyurl.com/y5ywmpf5)
23. Suresh Kumar TV, Negi PS, Udaya Sankar K (2010) Antibacterial activity of *Nigella sativa* L. seed extracts. *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 1: 96-100. [Link: https://tinyurl.com/yyrkc6bs](https://tinyurl.com/yyrkc6bs)
24. Halawani E (2009) Antibacterial activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and their interaction with some antibiotics. *Advan Biol Res* 3: 148-152. [Link: https://tinyurl.com/y3ccppbh](https://tinyurl.com/y3ccppbh)
25. Shohayeb M, Halawani E (2012) Comparative antimicrobial activity of some active constituents of *N. sativa* L. *World Appl Sci J* 20: 182-189. [Link: https://tinyurl.com/y55qtvho](https://tinyurl.com/y55qtvho)
26. Jrah Harzallah H, Kouidhi B, Flamini G, Bakhrouf A, Mahjoub T (2011) Chemical composition, antimicrobial potential against cariogenic bacteria and cytotoxic activity of Tunisian *Nigella sativa* essential oil and thymoquinone. *Food Chemistry* 129: 1469-1474. [Link: https://tinyurl.com/y2rnf58p](https://tinyurl.com/y2rnf58p)
27. Mishra RP (2011) Effect of metal ions and drugs on antibacterial activities of *Nigella sativa* (L.) seeds. *Webmed Central Ayurvedic Medicine* 2: 1-9. [Link: https://tinyurl.com/yxkqu66h](https://tinyurl.com/yxkqu66h)
28. Sellami M, Ghariani B, Louati H, Miled N, Gargouri Y (2013) Biological activities of extracts of different spices and plants. *International Journal of Current Engineering and Technology* 3: 1051-1060. [Link: https://tinyurl.com/y3pw6byr](https://tinyurl.com/y3pw6byr)
29. Taylor JLS, Rabe T, McGaw LJ, Jäger AK, Van Staden J (2001) Towards the scientific validation of traditional medicinal plants. *Plant Growth Regul* 34: 23-37. [Link: https://tinyurl.com/y6ouzehs](https://tinyurl.com/y6ouzehs)
30. Erdman JW, Balentine D, Arab L, Beecher G, Dwyer JT, et al. (2007) Flavonoids and heart health. *Proceeding of the ILSI North America Flavonoids Workshop. The Journal of Nutrition* 137: 718-737. [Link: https://tinyurl.com/y8nqf2u](https://tinyurl.com/y8nqf2u)

Discover a bigger Impact and Visibility of your article publication with
Peertechz Publications

Highlights

- ❖ Signatory publisher of ORCID
- ❖ Signatory Publisher of DORA (San Francisco Declaration on Research Assessment)
- ❖ Articles archived in worlds' renowned serviceservice providers such as Portico, CNKI, AGRIS, TDNet, Base (Bielefeld University LILibrary), CrossRefCrossRef, Scit, J-Gate etc.
- ❖ Journals indexed in ICMJE, SHERPA/ROMEO, SHERRPA/ROMEO, GoogleGoogl Scholar etc.
- ❖ OAI-PMH (Open Archives Initiative) PProtocolocol forfor Metadata Harvesting)
- ❖ Dedicated Editorial Board forr everyvery journaljournal
- ❖ Accurate and rapid peer-review pprocessprocess
- ❖ Increased citations of published articles through promotions
- ❖ Reduced timeline for article publication

Submit your articles and experience a new surge in publication services (<https://www.peertechz.com/submitmission>).

Peertechz Journals wishes everlasting success in your every endeavours.

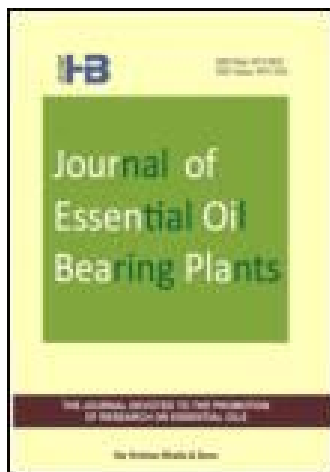
Copyright: © 2019 Derbal S, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

This article was downloaded by: [Anadolu University]

On: 23 December 2014, At: 22:47

Publisher: Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Journal of Essential Oil Bearing Plants

Publication details, including instructions for authors and subscription information:
<http://www.tandfonline.com/loi/teop20>

Phytochemical Composition, Antioxidant, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* L. Essential Oil

Mohsen Kazemi^a

^a Department of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Science and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran Published online: 23 Dec 2014.



[Click for updates](#)

To cite this article: Mohsen Kazemi (2014) Phytochemical Composition, Antioxidant, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* L. Essential Oil, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 17:5, 1002-1011, DOI: [10.1080/0972060X.2014.914857](https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.914857)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2014.914857>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Taylor & Francis makes every effort to ensure the accuracy of all the information (the "Content") contained in the publications on our platform. However, Taylor & Francis, our agents, and our licensors make no representations or warranties whatsoever as to the accuracy, completeness, or suitability for any purpose of the Content. Any opinions and views expressed in this publication are the opinions and views of the authors, and are not the views of or endorsed by Taylor & Francis. The accuracy of the Content should not be relied upon and should be independently verified with primary sources of information. Taylor and Francis shall not be liable for any losses, actions, claims, proceedings, demands, costs, expenses, damages, and other liabilities whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with, in relation to or arising out of the use of the Content.

This article may be used for research, teaching, and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, redistribution, reselling, loan, sub-licensing, systematic supply, or distribution in any form to anyone is expressly forbidden. Terms & Conditions of access and use can be found at <http://www.tandfonline.com/page/terms-and-conditions>

Phytochemical Composition, Antioxidant, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* L. Essential Oil

Mohsen Kazemi

Department of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Science and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received 17 March 2014; accepted in revised form 12 July 2014

Abstract: The present study reports the chemical composition, antimicrobial activity, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Nigella sativa* essential oil and its main compounds. The essential oil was obtained from the seeds of the *Nigella sativa* by hydrodistillation and analysed by GC-MS. The major components were p-cymene (32.05 %), α -thujene (6.0 %), α -pinene (1.11 %), camphene (11.0 %), sabinene (1.0 %), β -pinene (7.0 %), β -myrcene (0.21 %), α -phellandrene (0.45 %), limonene (0.13 %), γ -terpinene (5.12 %), terpinolene (0.23 %), camphor (1.0 %), carvone (0.32 %), thymoquinone (20.32 %), thymol (10.12 %), carvacrol (1.0 %), Longicyclene (0.9 %) and borneol (0.43 %). Antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities of the essential oil from Iranian *Nigella sativa* seeds and its main terpenes (p-cymene, γ -terpinene, thymoquinone, β -pinene, thymol and α -thujene) were determined. The thymoquinone exhibited strong antioxidant activity ($14.0 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$) and high anti-inflammatory activity ($90.21 \pm 0.2 \%$). Thymoquinone was found to be the most active to decrease oxidation and NO excretion. The essential oil was also subjected to antifungal and antibacterial tests, using the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal/fungicidal (MBC/MFC) method. The essential oil was particularly active against *Candida albicans* and *Escherichia coli*, with the lowest MIC and MBC/MFC value. In conclusion, these results support the use of the essential oil and its main compounds for their anti-inflammatory properties and antimicrobial activity.

Key words: *Nigella sativa*; Essential oil; Antimicrobial activity; Antioxidant activity; Anti-inflammatory activity.

Introduction

In the third world and developing countries, due to the increasing consumer demand for more natural foods, the abuse of toxic synthetic food substances and the increasing microbial resistance of pathogenic microorganisms against antibiotics, natural substances isolated from plants are considered as promising sources of food preservatives^{13,31,37}. It is clear from these studies that these secondary plant metabolites have potential uses in medical procedures and applications in the cosmetic, pharmaceutical and food industries^{6,7}. Among the different groups of plant products, essential oils are especially recommended as one

of the most promising groups of natural products for the formulation of safer antimicrobial agents⁴². Other than antibacterial and antiviral effects, most essential oils investigated possess anti-inflammatory, antifungal and antioxidant properties³⁴. Essential oils are also widely used as food flavours and preservatives to prevent growth of food-borne bacteria and molds, and so extend the shelf life of processed foods¹³. Plants of the Ranunculacea family possess a range of compounds with many biological activities. Some of the main properties are ability to induce apoptosis, antibacterial, anti-inflammation, antioxidant and have been used in treating fever³⁸.

*Corresponding author (Mohsen Kazemi)
E-mail: < kazemimohsen85@gmail.com >

Nigella sativa, also known as black cumin (black seed), is an annual herbaceous plant belonging to the Ranunculacea family which grows in countries bordering the Mediterranean Sea and India⁵. It is used as a food additive and flavour worldwide. The *N. sativa* seeds are known to be carminative, anti-inflammation, antioxidant and have been used in treating fever³⁸. Previous studies have shown monoterpenes, including p-cymene, α -thujene, γ -terpinene, carvacrol, α -pinene, thymoquinone and β -pinene, to be the main components of the essential oil from black cumin^{12,32}. Thymoquinone (TQ) was the abundant *N. sativa* essential oil compound and known to be the active principle responsible for many of the seed's antioxidant and anti-inflammatory effects²². Due to the application of *N. sativa* as an annual herbaceous plant and in folk medicine, the purpose of the present work was to evaluate the inflammatory properties, antioxidant and antimicrobial activities of *N. sativa* essential oil and relate them with their chemical composition, for further application in pharmaceutical industries as natural valuable products.

Materials and methods

Plant material and oil isolation

The seeds of *N. sativa* were purchased from a local market in Ilam (Iran) during July 2013-2014. The *N. sativa* seeds were ground and the resulting powder was subjected to hydrodistillation for 3 hours in an all glass Clevenger-type apparatus according to the method recommended by the European Pharmacopoeia¹⁹. The obtained essential oils were dried over anhydrous sodium sulphate and after filtration, stored at +4°C until tested and analysed.

Essential oil analysis

The GC-MS analyses were executed on a Hewlett-Packard 5973N gas chromatograph equipped with a column HP-5MS (30 m length \times 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 μ m) coupled with a Hewlett-Packard 5973N mass spectrometer. The column temperature was programmed at 50°C as an initial temperature, holding for 6 min, with 3°C increases per minute to the temperature of 240°C, followed by a temperature

enhancement of 15°C per minute up to 300°C, holding at the mentioned temperature for 3 min. Injector port temperature was 290°C and helium used as carrier gas at a flow rate 1.5 ml/min. Ionization voltage of mass spectrometer in the EI-mode was equal to 70 eV and ionization source temperature was 250°C. Linear retention indices for all components were determined by co-injection of the samples with a solution containing homologous series of C8-C22 *n*-alkanes and comparing them and their mass spectra with those of authentic samples or with available library data of the GC-MS system (WILEY 2001 data software) and Adams libraries spectra¹.

Antioxidant activity

The efficacy of the essential oils to scavenge 2,20-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals was evaluated using a spectrophotometry method^{15,26}. On basis of bleaching of the bluish-red or purple colour of DPPH solution as a reagent. Briefly, a 50 μ l volume of various dilutions of each samples was mixed with 5 ml of 0.004 % methanol solutions of DPPH followed by 30 min incubation at ambient temperature. Thereafter, the sample absorbance was recorded against control at 517 nm. The inhibition percentages were measured using Eq. (1). The antioxidants activity of the test samples in concentration providing 50 % inhibition, were considered as IC50 (μ g/ml).

$$\text{Inhibition percent} = \frac{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100 \quad (1)$$

Butylhydroxyanisole (BHA) and ascorbic acid were used as positive controls. All experiments were repeated three times and the average results and standard deviations calculated.

Antibacterial activity

Gram-positive bacteria: *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Enterobacter cloacae* (ATCC 13047), *Enterococcus faecalis* (ATCC 49452), *Listeria monocytogenes* (ATCC15313), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Gram-negative bacteria: *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis*

(ATCC 35659), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311), *Citrobacter freundii* (ATCC 8090). Fungal strains: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida tropicalis* (ATCC 13803), *Candida parapsilosis* (ATCC 90018), *Aspergillus niger* (ATCC 16404) and *Aspergillus fumigatus* (ATCC 46645). The bacteria species were maintained in Mueller Hinton Agar and Tryptic Soy Agar. Strains of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp. were maintained on Sabourand Dextrose Agar.

Antimicrobial activity

Minimum inhibitory (MIC) and minimum bactericidal/fungicidal (MBC/MFC) concentrations were determined by microdilution method in 96 well microtitre plates, described by Douk *et al.*,¹⁶ and EUCAST¹⁸. Briefly, fresh overnight cultures of bacteria were adjusted with sterile saline to a concentration of 1.0×10^5 CFU per well, and 1.0×10^4 CFU per well for fungi. EOs were added in TSB medium for bacteria, and SDB medium for fungi. The microplates were incubated for 24 h at 37°C for bacteria, and 48 h at 37°C for fungi. The MIC was defined as the lowest concentration of EO inhibiting the visible growth of the test strain. However, the MIC/MBC values for bacteria and fungi were detected following the addition of 40 µL of piodonitrote trazoliumviolet (INT) 0.2 mg/mL and incubation at 37°C for 30 min⁴⁰. The MBCs/MFCs were determined by serial subcultivations of 10 µL into microtiter plates containing 100 µL of broth per well and further incubation for 24 h at 37°C. The lowest concentration with no visible growth was defined as the MFC, indicating 99.5 % killing of the original inoculum. Following positive controls were used in both experiments: antibiotics (Streptomycin) and mycotic (Fluconazole). Each test was carried out in triplicates and repeated three times.

Anti-inflammatory activity

To evaluate the anti-inflammatory potential of the oils, NO production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated macrophages was used. Exponentially growing macrophages (RAW 264.7 cells) were plated in 24 -well microplates at a density of 2×10^5 cells per well in 400 µl of culture medium and were allowed to adhere for 24 h at

37°C under 5 % CO₂. Cells were then treated with increasing concentrations of essential oil and pure compounds dissolved in DMSO. The final concentration of solvent in the culture medium was maintained at 0.5 % (v/v) to avoid solvent toxicity. Cells were then stimulated with 100 µg/ml LPS and incubated at 37°C under 5 % CO₂. After 24 h, cell-free supernatants were collected and NO was measured using the modified method of Green *et al.*,²³. Griess reagent (50 µl of 1 % sulphanilamide and 50 µl of 0.1 % N-1-naphtyl-ethylenediamine dihydrochloride in 2.5 % H₃PO₄) was added in equal volume (100 µl) to cell supernatant and incubated at roomtemperature for 30 min. N(G)- nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) was used as a positive control. Absorbance was measured using an ELISA automatic microplate reader at 550 nm and the nitrite concentration determined from a regression analysis prepared with serial dilutions of sodium nitrite¹⁰.

Statistical analysis

Main effects means indicating significant differences were tested using Duncan's multiple range test. Correlation and regression coefficients were performed using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS).

Results and discussion

Chemical composition of essential oil

The essential oil of Iranian *N. sativa* seeds obtained using hydrodistillation was isolated in high yield (0.8 %). Results of GC-MS analysis of the essential oil (Table 1) indicate that the essential oil was characterized mainly by monoterpenes. The major constituent of the oil was the hydrocarbon monoterpene p- cymene, with a relative concentration of 32.05 %. The GC-MS analysis of *N. sativa* oil showed eighteen compounds representing 98.39 % of the total oil ; p-cymene was the main constituent (32.05 %) followed by α-thujene (6.0%), α-pinene (1.11 %), camphene (11.0 %), sabinene (1.0 %), β-pinene (7.0 %), β-myrcene (0.21 %), α-phellandrene (0.45 %), limonene (0.13 %), γ-terpinene (5.12 %), terpinolene (0.23 %), camphor (1.0 %), carvone (0.32 %), thymoquinone (20.32 %), thymol (10.12 %), carvacrol (1.0 %), longicyclene

Table 1. Chemical composition of *Nigella sativa* volatile oil constituents

Compound	RI	%
α -Thujene	916	6.00
α -Pinene	920	1.11
Camphene	928	11.00
Sabinene	956	1.00
β -pinene	960	7.00
β -myrcene	968	0.21
α -phellandrene	1000	0.45
limonene	1020	0.13
p-Cymene	1022	32.05
γ -Terpinene	1068	5.12
Terpinolene	1080	0.23
Camphor	1120	1.00
Borneol	1168	0.43
Carvone	0.32	12.40
Thymoquinone	1252	20.32
Thymol	1290	10.12
Carvacrol	1301	1.00
Longicyclene	1387	0.90
Total		110.47

^a The retention Kovats indices were determined on BD5 capillary column

(0.9 %) and borneol (0.43 %). Previous studies have shown monoterpenes, including p-cymene, α -thujene, γ -terpinene, carvacrol, α -pinene and β -pinene, to be the main components of the essential oil from black cumin^{12,32}. Our results reinforce previous data on the variability seed volatile oils, depending on the origin of the samples, environmental and climatic conditions. A variety of chemotypes have been described in the literature. An Iranian *N. sativa* essential oil was found to be dominated by phenylpropanoid components and displayed a *trans*-anethole chemotype²⁸; other *N. sativa* from Iran²⁴, Algeria⁹ and India³⁶ was found p-cymene/thymoquinone chemotype. Wajs *et al.*,⁴³ reported p-cymene (31.12 %) as the main constituent of the *N. sativa* essential oil. It has been reported that the chemical compositions of the essential oil are highly influenced by climatic conditions and geographical factors^{20,35}. The high level of p-cymene, thymoquinone and thymol in the essential oil could contribute to the valorization of Iranian *N. sativa* species, since this monoterpene is of great

importance in industry as intermediate for synthesis of fragrances, pharmaceuticals and herbicides.

Antimicrobial activity

The *in vitro* antimicrobial activities of *N. sativa* essential oil against the studied microorganisms were assessed by the minimum inhibitory (MIC) and minimum bactericidal/fungicidal (MBC/MFC) (Table 2). According to the results given in table 2, *N. sativa* essential oil exhibited a significant antimicrobial activity against all tested strains. Inhibition values ranged as follows: MIC 2.5 ± 0.3 (*Escherichia coli*) – 8 ± 0.65 $\mu\text{g/mL}$ (*Staphylococcus aureus*) and MBC 2.5 ± 0.0 (*Escherichia coli*) – 10.96 $\mu\text{g/mL}$ (*Pseudomonas aeruginosa*) for bacteria, and MIC 2 ± 0.6 (*Candida albicans*) – 5 ± 0.4 $\mu\text{g/mL}$ (*Aspergillus niger*) and MFC 1 ± 0.7 (*Candida albicans*) – 2 ± 0.6 $\mu\text{g/mL}$ (*Aspergillus fumigatus*) for fungi. Results obtained from minimum inhibitory (MIC) and minimum bactericidal/fungicidal (MBC/MFC), indicated that *Candida albicans* and *Escherichia*

Table 2. Antimicrobial activity of the essential oils (g/mL) from *Nigella sativa* using minimum inhibitory (MIC) and minimum bactericidal/fungicidal (MBC/MFC) test

Microorganisms	Essential oil		Antibiotic (Streptomycin)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Bacillus cereus</i>	2.5±0.78		20±0.8	
		2.5±0.40	40±0.86	
<i>Enterobacter cloacea</i>	5±0.52		20±0.12	
		5±0.11	20±0.86	
<i>Enterococcus faecalis</i>	5±0.17		20±0.1	
		5±0.64	40±0.86	
<i>Listeria monocytogenes</i>	5±0.12		15±0.71	
		5±0.00	20±0.86	
<i>Staphylococcus aureus</i>	8±0.65		100±0.34	
		10±0.87	200±0.86	
<i>Acinetobacter baumanii</i>	5±0.89		25±0.45	
		5±0.9	20±036	
<i>Escherichia coli</i>	2.5±0.3		20±0.59	
		2.5±0.0	40±08	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3±0.3		20±0.59	
		5±0.6	20±45	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8±0.54		60±0.7	
		10.96±00	250±0.1	
<i>Proteus mirabilis</i>	5±0.21		20±0.54	
		5±0.38	20±45	
<i>Salmonella typhimurium</i>	5±0.6		20±0.39	
		5±0.54	20±05	
<i>Citrobacter freundii</i>	5±0.89		20±0.98	
		5±0.6	40±0.00	
Microorganisms	Essential oil		Mycotic (Fluconazole)	
	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>Candida albicans</i>	2±0.6		6±0.3	
		1±0.7	4±0.3	
<i>Candida tropicalis</i>	5±0.1		6±0.1	
		2±0.2	4±0.1	
<i>Candida parapsilosis</i>	5±0.2		5±0.5	
		2±0.3	4±0.2	
<i>Aspergillus niger</i>	5±0.4		6±0.2	
		2±0.6	4±0.6	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	5±0.2		5±0.8	
		2±0.7	4±0.3	

coli are the most sensitive microorganism tested, with the lowest MIC and MBC/MFC value (Table 2) in the presence of the oil isolated from *N.*

sativa. Comparing the results of EOs with that of standard, streptomycin and fluconazole, it was concluded that the oils possess more potent anti-

oral-pathogenactivity. EOs of *N. sativa* expressed higher antibacterial activity than both antibiotics tested. Overall, the EOs of *N. sativa* showed significant antibacterial activity, especially against *Escherichia coli*. The oils also efficiently inhibited the growth of *Candida* spp., which is crucial since *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Candida parapsilosis* proved to be involved in the disease course, and together with *Candida albicans* represent more than 80 % of human cavity clinical isolates³. Correlation between the achieved antimicrobial activity of selected EO of *N. sativa* and their chemical composition insinuates that the activity may be easily ascribed to phenolic compound thymoquinone and thymol present in high percentage in the oils. Reason more for such an assumption might be the fact that the thymoquinone and thymol has been already presented as a good antimicrobial agent in previous studies⁴¹.

Antibacterial properties of *N. sativa* essential oil could be due to the ability of the oil to permeabilize membranes, including mitochondrial membranes, and to destroy cellular integrity of bacteria and eukaryotic cells, leading to cell death by necrosis and apoptosis⁸. Food poisoning originating from contaminated foods by both bacteria (Gram-positive and Gram-negative) and fungi causes concern to society and to industry. A major problem in antimicrobial chemotherapy is the increasing occurrence of resistance to antibiotics, which leads to the insufficiency of antimicrobial treatment. Plant

medical and herbs have been safely since ancient times as food flavoring agents and also as herbal medicines and are now mainly considered “generally regarded as safe” (GRAS). Recently there have been considerable emphasis studies involving essential oils and extracts of plant medical and herbs on inhibiting the growth of microbes²¹.

Antioxidant activity

Reactive oxygen species (ROS), including oxygen radicals and their reaction products, are known to react with biological molecules, leading to cell and tissue damage. Antioxidant activity is a complex process usually occurring through several mechanisms. Due to its complexity, the evaluation of the antioxidant activity for pure compounds or extracts should be carried out by more than one test method⁴. The lower IC₅₀ value indicates a stronger ability of the extract to act as a DPPH scavenger while the higher IC₅₀ value indicates a lower scavenging activity of the scavengers as more scavengers were required to achieve 50 % scavenging reaction. The results presented in table 3 revealed that *N. sativa* essential oil and its main constituents exhibited a remarkable activity. In particular, thymoquinone showed clearly a higher activity (IC₅₀ = 14± 0.7 µg/ml) followed by *N. sativa* essential oil (19± 0.7 µg/ml) and thymol (18± 0.5 µg/ml) samples (Table 3), while the activities of other terpenoids were weak. BHT and ascorbic acid as positive controls were exhibited IC₅₀ values equal to 12±

Table 3. DPPH radical scavenging activity of *Nigella sativa* seed essential oil and its main constituents. Butylhydroxyanisole (BHA) and ascorbic acid were used as positive controls

Tested compounds	IC ₅₀ (µg/ml)
<i>Nigella sativa</i> essential oil	19±0.7 µg/ml
α-Thujene	25±0.3 µg/ml
β-pinene	25 µg/ml
p-cymene	24±1.6 µg/ml
γ-terpinene	25±1.0 µg/ml
Thymoquinone	14±0.7 µg/ml
Thymol	18±0.5 µg/ml
BHA	12±0.3 µg/ml
AA	7±0.4 µg/ml

0.3 $\mu\text{g/ml}$ and $7 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$, respectively. It is well-known that, the oxygenated monoterpenes and monoterpene hydrocarbons are the principle antioxidant compounds in the plants¹⁴. The monoterpene hydrocarbons, p-cymene and β -pinene were inactive (Table 3), despite previous reports of their *in vitro* antioxidant activities³³. Thymoquinone has been the subject of many pharmacological studies because of its marked biological activities, e.g., antioxidant, anti-inflammatory, and anticarcinogenic effects³⁹. The antioxidant capability of thymoquinone has been implicated in the prevention of chemical-induced carcinogenesis. Numerous *in vitro* and *in vivo* studies have provided ample evidence that thymoquinone could prevent carcinogenesis and inhibit tumorigenesis through different molecular mechanisms⁴⁴. The study of Ghali-Muhtasib *et al.*,²² indicates that thymoquinone inhibits tumor-cell invasion *in vitro* with IC_{50} of $40 \mu\text{M}$ as well as ACF formation and tumor development in DMH-induced mouse colon carcinogenesis and in a xenograft model of human HCT-116 colon cancer cells. Our findings revealed that the presence of oxygenated monoterpenes such as thymol and thymoquinone could be attributed by strong antioxidant activity. However, our results indicated that antioxidant activity of the essential oil is mainly due to the action of thymoquinone.

Anti-inflammatory activity

The anti-inflammatory activities of *N. sativa* essential oil and its major constituents were evaluated by measuring their capacity to inhibit

cellular NO generation. Nitric oxide is an endogenous free radical species that is synthesized from L-arginine by nitric oxide synthase (NOS) in various tissues¹⁰. The anti-inflammatory activity of *N. sativa* essential oil was evaluated on RAW 264.7 macrophages which were stimulated to induce an overproduction of NO. As presented in table 4, the essential oil showed a strong inhibitory effect on LPS-induced NO secretion with $82 \pm 0.4\%$ inhibition observed at $25.0 \mu\text{g/ml}$. Comparatively, the L-NAME, used as positive control inhibited NO release by $50.34 \pm 0.7\%$. Thymoquinone was found to be the most active compound, inhibiting NO production by $90.21 \pm 0.2\%$ at $25.0 \mu\text{M}$. The effect of thymoquinone assessed alone was similar to that of the essential oil (Table 4). El-Mahmoudy *et al.*,¹⁷ reported that thymoquinone mediates its inhibitory effect on NO production via the reduction of inducible NOS mRNA and protein expressions. Therefore, this compound may be responsible for the anti-inflammatory activity of the oil. Nitric oxide inhibition was also demonstrated at $45.0 \mu\text{M}$ by α -pinene ($53.1 \pm 0.5\%$), α -thujene ($51 \pm 0.2\%$), γ -terpinene ($55 \pm 0.2\%$), thymol ($80 \pm 0.7\%$) and p-cymene ($55 \pm 0.7\%$). The anti-inflammatory potential of the *N. sativa* essential oil or its main compound may be directly related to its scavenging ability and/or capacity to inhibit μ NOS expression, the enzyme responsible for the release of high amounts of NO, during inflammatory conditions. However, our results (Table 4) suggest that the anti-inflammatory capacity of *N. sativa* essential oil could

Table 4. Effects of *Nigella sativa* seed essential oil (25.0 $\mu\text{g/ml}$) and its main constituents (25.0 μM) on NO production in LPS-stimulated RAW-264.7 macrophages. Values are mean \pm S.D. of three replications

Tested compounds	NO inhibition (%)
<i>Nigella sativa</i> seed essential oil	82.0 ± 0.4
p-cymene	55.0 ± 0.7
γ -terpinene	55.0 ± 0.2
α -pinene	53.1 ± 0.5
Thymol	80.0 ± 0.7
α -thujene	51.0 ± 0.2
Thymoquinone	90.21 ± 0.2
L-NAME	50.34 ± 0.7

be mediated, at least in part, by its strong direct antioxidant activity as an effective ROS scavenger. Our results are concomitant with literature data indicating the potent anti-inflammatory activity of the oxygenated terpenes and thymol^{11,25,27}. It has been shown that the activity of the enzyme NOS is consistent in human cancer and its selective modulation has been suggested as a potential strategy for chemo-prevention and reduction of cancer cell proliferation^{2,29}. Indeed, inflammatory mediators, such as NO have been reported to contribute to mutagenesis³⁰. This radical is an important regulator of physical homeostasis, whereas large amounts have been closely correlated with the pathophysiology of a variety of diseases and inflammations³⁰. Therefore, the inhibition of NO production may be a useful strategy for the treatment of various inflammatory disorders. Inflammation is involved in many chronic diseases and several types of cancers. Essential oils seem to be a good source antioxidant and anti-inflammatory natural products. In conclusion the essential oil of *N. sativa* revealed antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory effects and these results support the traditional use of this

plant in antimicrobial activity, relieving pain and inflammation.

Conclusion

N. sativa seed, its oil and extracts and some of its active principles, particularly thymoquinone and thymol, possess remarkable *in vitro* anti-inflammation and antioxidant activities. Our data indicate that the essential oil extracted from *N. sativa* seeds exhibit potent biological activities, which support their use in traditional medicine. The antioxidant activities of *N. sativa* can contribute to the prevention and the reduction of the complications of neoplasms. Moreover, results regarding the bioactivities of the main volatile components suggest that the observed activities of the essential oil are connected to its chemical composition, where thymoquinone and thymol has been found to be the most active compounds. However, further studies are needed to obtain purified compounds that may be responsible for the activities observed from the tested seeds.

Acknowledgements

We would like to thanks H. Rostami for his help and his permission to use the laboratory facilities.

References

1. **Adams, R.P. (2001)**. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Quadra pole Mass Spectroscopy. Carol Stream, IL, Allured. 61-367.
2. **Ahmad, N., Srivastava, R.C., Agarwal, R. and Mukhtar, H. (1997)**. Nitric oxide synthase and skin tumor promotion. Biochemical and Biophysical Research Communications. 232-328.
3. **Akpan, A. and Morgan, R. (2002)**. Oral candidiasis. Postgrad. Med. J. 78(2): 455-459.
4. **Aruoma, O.I. (2003)**. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 523:9-20.
5. **Balakumar, P., Rohilla, A. and Thangathirupathi, A. (2010)**. Gentamicin-induced nephrotoxicity: do we have a promising therapeutic approach to blunt it? Pharmacological Research. 62(3): 179-186.
6. **Baratta, T. M., Dorman, D. H. J., Deans, S. G., Figueiredo, A. C., Barroso, J. C. and Ruberto, G. (1998)**. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. Flavour and Fragrance Journal. 13: 235-244.
7. **Baratta, T. M., Dorman, D. H. J. and Deans, S. G. (1998)**. Chemical composition antimicrobial and antioxidative activity of Laurel, Sage, Rosemary, Oregano, and Coriander essential oils. Journal of Essential Oils Research. 10: 618-627.
8. **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. (2007)**. Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology. 46: 446-475.
9. **Benkaci-Ali, F., Baaliouamer, A., Meklati, Chemat, F. (2007)**. Chemical composition of seed

- essential oils from Algerian *Nigella sativa* extracted by microwave and hydrodistillation. *Flavour Fragr. J.* 22: 148-153.
10. **Bourgou, S., Pichette, A., Marzouk, B. and Legault, J. (2010).** Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia. *South African Journal of Botany.*76: 210-216.
 11. **Braga, P.C., Dal Sasso, M., Culici, M., Bianchi, T., Bordoni, L. and Marabini, L. (2006).** Anti-inflammatory activity of thymol: Inhibitory effect on the release of human neutrophil elastase. *Pharmacology.*77: 130-6.
 12. **Burits, M. and Bucar, F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research.* 14(5): 323-328.
 13. **Burt, S. (2004).** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *International Journal of Food Microbiology.* 94: 223-253.
 14. **Cao, L., Si, J.Y., Liu, Y., Sun, H., Jin, W. and Li, Z. (2009).** Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* Maxim. *Food chemistry.* 115(3): 801-805.
 15. **Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O. and Dyatmiko, W. (1997).** Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta.* 80(4): 1144-1152.
 16. **Douk, K.D., Dagher, M.S., Sattout, J.E. (1995).** Antifungal activity of the essential oil of *Origanum syriacum* L. *J. Food Prot.*58: 1147-1149.
 17. **El-Mahmoudy, A., Matsuyama, H., Borgan, M.A., Shimizu, Y., El-Sayed, M.G., Minamoto, N., Takewaki, T. (2002).** Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages. *International Immunopharmacology.* 2: 1603-1611.
 18. **European Committee on Antibiotic Susceptibility. (2002).** Method for Determination of Minimal Inhibitory Concentration (MIC) by Broth Dilution of Fermentative Yeasts. Discussion document E. Dis. 7. 1. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Taufkirchen, Germany.
 19. **European Pharmacopoeia. (1975).** Vol. 3, Maisonneuve S. A., Sainte-Ruffine.
 20. **Fatima, S., Farooqi, A.A. and Sharma, S. (2002).** Physiological and metabolic responses of different genotypes of *Cymbopogon martinii* and *C. winterianus* to water stress. *Plant growth regulation.* 37(2): 143-9
 21. **Falzari, L.M. and Menary, R.C. (2003).** Chamomile for oil and Dried flowers. RIRDC Publication. No. 02/156 RIRDC Project No. UT-28 A, Australia.
 22. **Gali Muhtasib, H., Ocker, M., Kuester, D., Krueger, S., El Hajj, Z. and Diestel, A. (2008).** Thymoquinone reduces mouse colon tumor cell invasion and inhibits tumor growth in murine colon cancer models. *Journal of cellular and molecular medicine.* 12(1): 330-342.
 23. **Green, S.J., Meltzer, M.S., Hibbs, J.B. and Nacy, C.A. (1990).** Activated macrophages destroy intracellular *Leishmania major* amastigotes by an L-arginine-dependent killing mechanism. *Journal of Immunology.* 144: 278-283.
 24. **Hajhashemi, V., Ghannadi, A. and Jafarabadi, H. (2004).** Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug. *Phytother. Res.* 18: 195-199.
 25. **Hart, P.H., Brand, C., Carson, C.F., Riley, T.V., Prager, R.H. and Finlay-Jones, J.J. (2000).** Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflammatory Research.* 49: 619-626
 26. **Kirby, A.J. and Schmidt, R.J. (1997).** The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs-I. *Journal of Ethnopharmacology.* 56(2): 103-108.
 27. **Lino, C.S., Gomes, P.B., Lucetti, D.L., Diogenes, J.P., Sousa, F.C. ad Silva, M.G. (2005).** Evaluation of antinociceptive and antiinflammatory activities of the essential oil (EO) of *Ocimum*

- micranthum* Willd. from Northeastern Brazil. *Phytother Res.* 19: 708-712.
28. **Nickavar, B., Mojab, F., Javidnia, K. and Amoli, M.A.R. (2003).** Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Z. Naturforsch.* 58: 629-631.
 29. **Nishikawa, M., Chang, B.J. and Inoue, M. (2004).** Inducible NO synthase inhibits the growth of free tumor cells, but enhances the growth of solid tumors. *Carcinogenesis.* 25: 2101-2105.
 30. **Marletta, M.A. (1993).** Nitric oxide synthase structure and mechanism. *Journal of Biological Chemistry.* 17: 12231-12234.
 31. **Peschel, W., Sanchez-Rabaneda, F., Dieckmann, W., Plescher, A., Gartzia, I. and Jimenez, D. (2006).** An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruits wastes. *Food Chemistry.* 97: 137-150.
 32. **Rchid, H., Nmila, R. and Bessiere, J.M. (2004).** Volatile Components of *Nigella damascena* L. and *Nigella sativa* L. *Seeds Essent. Oil Res.* 16: 585-587.
 33. **Ruberto, G. and Baratta, M.T. (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry.* 69: 167-174.
 34. **Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S. and Radice, M. (2005).** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, anti-radicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry.* 91: 621-632.
 35. **Shareef, AA. (2011).** Evaluation of antibacterial activity of essential oils of *Cinnamomum* sp. and *Boswellia* sp. *Journal of Basrah Researches,* 37(5).
 36. **Singh, G., Marimuthu, P., de Heluani, C.S. and Catalan, C. (2005).** Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *J. Sci. Food Agr.* 85: 2297-2306.
 37. **Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. (2001).** The potential application of plant essential oil as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology.* 18: 463-470.
 38. **Subapriya, R. and Nagini, S. (2005).** Medicinal properties of neem leaves: a review. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents.* 5(2): 149-156
 39. **Topal, A. and Celebi, F. (2011).** Effects of *Nigella sativa* Aqueous Extracts on Gastric Acid Secretion in Isolated Rat Stomach. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi.,* 17(4).
 40. **Tsukatani, T., Suenaga, H., Shiga, M., Noguchi, K., Ishiyama, M., Ezoe, T. and Matsumoto, K. (2012).** Comparison of the WST-8 colorimetric method and the CLSI broth microdilution method for susceptibility testing against drug-resistant bacteria. *J. Microbiol. Methods.* 90: 160-166.
 41. **Ultee, A., Slump, R.A., Steging, G. and Smid, E.J. (2000).** Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *Journal of Food Protection.* 63: 620-624.
 42. **Varma, J. and Dubey, N. K. (2001).** Efficacy of essential oils of *Caesulia axillaris* and *Mentha arvensis* against some storage pests causing biodeterioration of food commodities. *International Journal of Food Microbiology.* 68: 207-210.
 43. **Wajs, A., Bonikowski, R. and Kalembe, D. (2008).** Composition of essential oil from seeds of *Nigella sativa* L. cultivated in Poland. *Flavour and fragrance journal.* 23(2): 126-32.
 44. **Woo, C.C., Kumar, A.P., Sethi, G., Tan, K.H.B. (2012).** Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochemical Pharmacology.* 83(4): 443-451.

ملخص:

حبة البركة هي واحدة من أكثر النباتات الطبية استخدامًا حول العالم. تستخدم مستخلصات بذور هذا النبات على نطاق واسع في الطب التقليدي. تشير الدراسات الحديثة إلى الخصائص المضادة للميكروبات لهذه البذور. تهدف الدراسة الحالية إلى تحليل مقالين لسعيد وعبد اللطيف (2019) ومحسن (2014)، حول تقييم القوة المضادة للميكروبات لبعض المستخلصات مقابل السلالات البكتيرية والفطرية بطرق مختلفة: عن طريق الانتشار على وسط مولر هينتون. أجاز وتحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط (CMI). أعطى مستخلص أسيتات الإيثيل أفضل تثبيط ضد السلالات البكتيرية المدروسة باستثناء *Enterococcus faecalis*، يليه المستخلص الميثانولي والمستخلص الإيثانولي. أظهر الزيت العطري تأثيرًا مثبطًا على *Escherichia coli* (ATCC 25922) وسلالة فطرية *Candida albicans* (ATCC 10231)، وكانت التركيزات المثبطة الأدنى المسجلة (CIM) في حدود 2.5 مجم / مل و 2 مجم / مل. في الختام، تُظهر المستخلصات المختلفة من حبة البركة نشاطًا واسعًا ضد السلالات الميكروبية المسببة للأمراض. ولذلك، فإن حبة البركة تشكل خزانًا من المستقلبات ذات القوة المضادة للميكروبات.

الكلمات المفتاحية: حبة البركة، الزيت العطري، الأنشطة المضادة للميكروبات، CMI

Résumé :

Nigella sativa est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des graines de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle. Les études récentes soulignent des propriétés antimicrobiennes de ces graines.

La présente étude vise à analyser deux articles de Saïd et Abdellatif (2019) et Mohsen (2014), sur l'évaluation du pouvoir antimicrobien de certains extraits vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques par différentes méthodes : par diffusion sur milieu Muller Hinton Agar et par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

L'extrait acétate d'éthyle a donné la meilleure inhibition vis-à-vis des souches bactériennes étudiées à l'exception de *Enterococcus faecalis*, suivi par l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique.

L'Huile essentielle a montré un effet inhibiteur sur *Escherichia coli* (ATCC 25922) et une souche fongique *candida albicans* (ATCC 10231), les concentrations minimales inhibitrices enregistrées (CMI) sont de l'ordre 2,5 mg/ml et 2 mg/ml. En conclusion, les différents extraits de *Nigella sativa* présentent un large spectre d'activités vis-à-vis des souches microbiennes pathogènes.

Nigella sativa constitue donc un réservoir de métabolites ayant un pouvoir antimicrobien.

Mots clés : *Nigella sativa*, l'huile essentielle, activités antimicrobiennes, CMI

Abstract:

Nigella sativa is one of the most widely used medicinal plants around the world. Extracts from the seeds of this plant are widely used in traditional medicine. Recent studies point to the antimicrobial properties of these seeds.

The present study aims to analyze two articles by Saïd and Abdellatif (2019) and Mohsen (2014), on the evaluation of the antimicrobial power of certain extracts vis-à-vis bacterial and fungal strains by different methods: by diffusion on Muller medium Hinton Agar and by the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC).

The ethyl acetate extract gave the best inhibition against the bacterial strains studied except *Enterococcus faecalis*, followed by the methanolic extract and the ethanolic extract.

Essential oil has shown an inhibitory effect on *Escherichia coli* (ATCC 25922) and a fungal strain *candida albicans* (ATCC 10231); the recorded minimum inhibitory concentrations (MIC) are in the order of 2.5 mg / ml and 2 mg / ml. In conclusion, the various extracts of *Nigella sativa* exhibit a broad spectrum of activity against pathogenic microbial strains.

Nigella sativa therefore constitutes a reservoir of metabolites with antimicrobial power. **Keywords:** *Nigella sativa*, essential oil, antimicrobial activities, MIC