




# Çörek Otunun (*Nigella Sativa L.*) Aktif Bileşeni Timokinonun İnsan Sağlığı Üzerine Olası Etkileri

## Potential Effects of Thymoquinone the Active Constituent of Black Seed (*Nigella Sativa L.*) on Human Health

 Pelin GÜZELSOY,<sup>a</sup>  
 Sevtap AYDIN,<sup>a</sup>  
 Nurşen BAŞARAN<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Farmasötik Toksikoloji AD,  
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,  
Ankara

Received: 18.01.2018  
 Received in revised form: 28.02.2018  
 Accepted: 01.03.2018  
 Available online: 15.08.2018

Correspondence:  
 Sevtap AYDIN  
 Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,  
 Farmasötik Toksikoloji AD, Ankara,  
 TÜRKİYE/TURKEY  
 sevtapay@hacettepe.edu.tr

**ÖZET** Bitki antioksidanları, en az yan etkileri ve besin takviyesi olarak önemli rolleri nedeni ile son zamanlarda popülerite kazanmıştır. Timokinon, *Nigella sativa L.* (çörek otu) tohumunun uçucu yağından elde edilen ana aktif fenolik bir bileşik olup yüksek antioksidan özellikleri nedeni ile birçok hastalıkta geleneksel olarak yaygın kullanılmaktadır. İn vitro ve in vivo çalışmalarda, timokinonun antiinflamatuar, antimikrobiyal ve antikanser gibi birçok faydalı etkilere sahip olduğu ileri sürülmektedir. Timokinon toksisitesi üzerine yapılan çalışmalarda, toksik etkileri ancak çok yüksek dozlarında gösterilebilmiştir. Timokinon, yüksek biyolojik etkinliği ve düşük sistemik toksisitesi ile dikkate değer bilimsel ilgi çekmektedir; bu durum, klasik terapötik ilaçlara umut verici bir alternatif olabilmektedir. Timokinon büyük olasılıkla birçok moleküler hedefleri değiştirmektedir, ancak timokinonun etkileri altında yatan bu moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır. Bu geniş etkilerine rağmen timokinonun çeşitli metabolik yollar üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi açısından daha ileri çalışmalara gereksinim olduğu görülmektedir. Bu çalışmada, *Nigella sativa L.* tohumlarının aktif maddesi olan timokinonun farmakolojik ve toksikolojik özelliklerinin kapsamlı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bulgular, timokinonun klinik araştırmalarda yeni bir ilaç olarak geliştirilmesi gerektiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Timokinon; çörek otu; zehirlilik; gıda güvenliliği

**ABSTRACT** Plant antioxidants have recently gained popularity due to their important role as dietary supplements with minimal side effects. Thymoquinone, the main active phenolic compound from the volatile oil of *Nigella sativa L.* seeds has been commonly used traditionally for several diseases due its high antioxidant properties. In in vitro and in vivo studies, thymoquinone has suggested to have many beneficial effects such as antiinflammatory, antimicrobial, and anticancer effects. In the studies on thymoquinone toxicity, its toxic effects could only be demonstrated at very high doses. Thymoquinone has attracted noteworthy scientific attention for its high biological activity and low systemic toxicity, which might be a promising alternative to conventional therapeutic drugs. It is likely that thymoquinone modifies a number of molecular targets; however, the molecular mechanisms underlying the effects of thymoquinone remain not fully understood. Despite these wide effects, it seems that the further study is needed to better understand the effects of thymoquinone on various metabolic pathways. In this review, the pharmacological and toxicological property of thymoquinone, which is the active ingredient of *Nigella sativa L.* seeds is evaluated. The evidence shows that thymoquinone should be developed as a novel drug in clinical trials.

**Keywords:** Thymoquinone; black seed; toxicity; food safety

**R**anunculaceae (Düğün çiçeğigiller) ailesinde yer alan, Güney Batı Asya, Avrupa, Kuzey Afrika'da yetişen ve ülkemizde çoğunlukla Afyon, Isparta, Burdur ve Konya yörelerinde yetiştirilen “çörek otu” olarak bilinen *Nigella sativa L.*, 20-30 cm uzunluğunda çiçekli yıllık bir bitkidir.<sup>1,2</sup> Çörek otu doğrusal mızrak şeklinde yapraklara sahiptir. Hassas çiçekleri 5-10 petalden oluşmaktadır ve genellikle sarı, beyaz, pembe, soluk

mavi ve mor renklidir (Şekil 1). Bitkinin meyveleri, geniş ve 3-7 adet birleşmiş folikülden oluşan kapsüldür ve her biri birçok tohum içermektedir.<sup>1,3</sup> Siyah renkli olan tohumlar yassı, oblong, anguler ve huni biçimindedir. Tohumlar 0.2 cm uzunluğunda ve 0,1 cm genişliğindedir (Şekil 1).<sup>1</sup>

Tohumları baharat olarak ve geleneksel tıpta farklı formlarda birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır.<sup>2</sup> Orta Doğu ve Uzak Doğu ülkelerinde geleneksel tıpta; astım, öksürük, bronşit, inflamatuvar hastalıklar, ateş, ağrı, baş dönmesi, böbrek ve karaciğer işlev bozuklukları, sinir sistemi hastalıkları, diyabet, ekzema, mide-barsak sistemi problemleri, hipertansiyon, kanser dâhil çeşitli semptomların ve hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır.<sup>4</sup> Kanser hastalarında kemoterapiyle birlikte tamamlayıcı ve alternatif tıpta kullanılabilirliği bildirilmektedir.<sup>2</sup>

Çörek otu tohumunun besin değeri yüksek olup, çeşitli aktif kimyasal bileşenler içermektedir. Çörek otu tohumunun yapısında başlıca doymuş/doymamış sabit yağlar (%31,0,-35,5), uçucu yağlar (%0,4-0,45), karbonhidratlar (%33,0-34,0), proteinler (%16,0-19,9), amino asitler, alkaloidler, tanenler, saponinler, lifler, mineraller (kalsiyum, çinko, fosfat), vitaminler (askorbik asit, tiyamin, niasin, pridoksin ve folik asit) bulunmaktadır (Tablo 1).<sup>5</sup>

Doymamış yağ asitleri (~%85); linolenik (omega-6) asit, oleik asit, linoleik asit, araşidonik asit, palmitoleik asit ve eikozadienoik asittir. Doymuş yağ asitleri (~%18); palmitik asit, stearik asit ve miristik asittir (Tablo 2).<sup>5</sup>

Çörek otu tohumunun uçucu yağlarından çeşitli farmakolojik aktif kimyasal bileşenler izole



ŞEKİL 1: *Nigella sativa* L. bitkisi ve tohumu.

**TABLO 1:** *Nigella sativa* L. tohumunun genel içeriği.

İçerik	% (a/a)
Yağ	31-35,5
Protein	16-19,9
Karbonhidrat	33-34
Lif	4,5-6,5
Saponin	0,013
Nem	5-7
Kül	3,7-7

edilmiştir; başlıca timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timolün yanı sıra; p-simen, d-limonen,  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen, trans-anetol, karvakrol ve nigellon yer almaktadır (Tablo 3).<sup>1,2,6,7</sup>

## ÇÖREK OTU TOHUMUNUN GELENEKSEL KULLANIMI

Çörek otu tohumu gıdalarda yiyecek koruyucu ve baharat olarak kullanılmaktadır. Çörek otu tohumu ve yağı yüzyıllardan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde dünyanın farklı yerlerinde; özellikle Asya, Afrika, Orta Doğu'da geleneksel olarak kullanılmıştır. Öksürük kesici, antiinflamatuvar, antifungal, hipoglisemik, antihipertansif, diüretik, antinosiseptif ve antihistaminik etkilere sahip olduğu bildirilmektedir.<sup>1,6,8,9</sup> Çörek otu tohumunun halk arasında astım, öksürük, bronşit, romatizma, dispepsi, ishal, dizanteri, ateş, ağrı, şişkinlik, sarılık, paralizi, basur ve diğer rahatsızlıklarda geleneksel olarak kullanıldığı bildirilmektedir ve kardiyovasküler, sindirim, bağışıklık, karaciğer, böbrek ve solunum sistemi problemlerini düzeltebileceği ve geleneksel tıbbi kullanımında faydalı olabileceği düşünülmektedir.<sup>2,4</sup> Ayrıca; çörek otu tohumundan yapılan tentürün ishal, dismenore, hazımsızlık, iştah kaybı, amenore, kurt ve deri döküntüsünün tedavisinde kullanıldığı, kusmanın önlenmesinde çörek otu tohumlarının kavularak dâhilen verildiği ve yağının ise haricen antiseptik olarak kullanıldığı bildirilmektedir.<sup>8</sup>

## TİMOKİNONUN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Çörek otu tohumunun farmakolojik etkilerinin birçoğundan içerdiği kinin bileşenleri, özellikle timokinon sorumludur.<sup>1,2,4</sup> Timokinon (2-izopropil-5-

metilbenzo-1,4-kinon) (%18,4-24), çörek otu tohumu uçucu yağının ana biyolojik aktif bileşenidir (Şekil 2). Enol ve keto form dâhil tautomerik formlarda bulunmaktadır. Keto formu büyük kısmını oluşturmaktadır (yaklaşık %90) ve bileşiğin farmakolojik özelliklerinden sorumludur. Timokinon hidrofobik bir moleküldür. Timokinon ışığa karşı yüksek duyarlılığa sahiptir ve ışığa maruziyette degradasyona uğramaktadır. Timokinonun artan pH'lerde stabilitesi azalmakta, asidik pH'de ise minimum degradasyon görülmektedir.<sup>4</sup>

## TİMOKİNONUN FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLERİ

Timokinonun farmakokinetik özelliklerine dair çalışmalar yeterli değildir. Timokinonun hidrofobik

**TABLO 2:** *Nigella sativa* L. tohumu yağının doymuş ve doymamış yağ asit bileşenleri.

Bileşenler	% (a/a)	Bileşenler	% (a/a)
Linoleik asit	44,7-56	Eikosadienoik asit	2-2,5
Oleik asit	20,7-24,6	Palmitik asit	12-14,3
Linolenik asit	0,6-1,8	Stearik asit	2,7-3
Araşidonik asit	2-3	Miristik asit	0,16
Palmitoleik asit	3	Steroller	0,5

**TABLO 3:** *Nigella sativa* L. tohumu yağının diğer aktif bileşenleri.

Bileşenler	% (a/a)	Bileşenler	% (a/a)
$\alpha$ -tuyen	2,4	p-simen-8-ol	0,4
3-metil monan	0,6	Nerol	1,3
$\alpha$ - pinen	1,2	Estragol	1,9
Sabinen	1,4	Dihidrokarvon	0,3
$\beta$ -pinen	1,3	Karvon	2,0
Mirsen	0,6	Timokinon	11,8
n-dekan	0,4	Anisaldehit	1,7
$\alpha$ -fellandren	0,6	Trans-anetol	27,1
p-simen	9,0	Karvakrol	3,7
Limonen	4,3	$\alpha$ -longipinen	0,3
1-metil-3-propil benzen	0,7	n-tetradan	0,2
$\gamma$ -terpinen	0,5	Longifolene	5,7
1-etil-2,3dimetil benzen	0,2	Uvidin	1,3
2(1H)-naftalenon	2,6	Miristisin	1,4
Fenkon	1,1	n-hekzaden	0,2
Terpinen-4-ol	0,7	Apiol	1,0
<b>Toplam</b>	<b>27,6</b>	<b>Toplam</b>	<b>60,3</b>

özelliği çözünebilirliğini etkilemektedir ve ilaç formülasyonlarının sınırlandırılmasına neden olmaktadır.<sup>10</sup> Son girişimler ile biyoyararlanım ve aktiviteleri artırılmış timokinonun yeni analogları sentezlenmiştir (Örneğin; katı lipit nanopartiküller, timokinon-yüklü lipozomlar, timokinon-yüklü nano-yapılı lipit taşıyıcılar gibi).<sup>4,11-13</sup>

Timokinonun intravenöz (IV), intraperitoneal (IP), oral yoldan subakut ve subkronik dâhil farklı uygulamalarının olduğu çalışmalar bulunmaktadır.<sup>4</sup>

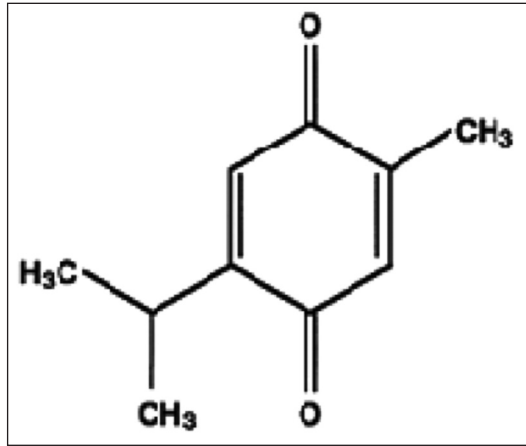
Timokinonun farmakokinetik özellikleri IV ve oral uygulama ile tavşanlarda incelenmiştir. Timokinonun IV uygulamayı takiben toplam klerensi 7,19 mL/kg/dk ve denge durumunda (Vss) tahmini dağılım hacmi 700,90 mL/kg'dır. Oral uygulamadan sonra görünen klerens değeri 12,30 mL/dk/kg ve Vss 5109,46 mL/kg'dır. Yarı ömrü ( $t_{1/2}$ ) yaklaşık 274 dk'dır. Timokinon IV 5 mg/kg uygulamada plazma konsantrasyonu linear kinetik göstermiştir. Oral uygulamada, eliminasyon ile karşılaştırıldığı zaman yavaş absorpsiyon göstermiştir ve mutlak biyoyararlanımı düşük bulunmuştur. Mutlak biyoyararlanım yaklaşık %58 olarak bildirilmiştir. Timokinonun oral uygulamadan sonra yavaş absorpsiyon ve hızlı eliminasyon gösteren bir bileşik olduğu gösterilmiştir.<sup>14</sup>

Timokinonun ağız yolu ile alınmasını takiben karaciğer enzimleri [DT-diaforaz (kinin redüktaz)] ile metabolize edilerek hidrokinona indirgendiği ve hidrokinonun konjuge edilip daha sonra merkapürük asite dönüştürülerek idrarla atıldığı bildirilmektedir (Şekil 3).<sup>4</sup>

Protein-ilaç etkileşimleri ilacın farmakokinetik ve farmakolojik özelliklerinden önemli bir faktördür. Timokinon-protein bağlanmasının tahmini yüzdesi tavşanlarda %99,19, insanlarda %98,99 olarak bildirilmiştir.<sup>14</sup>

## TİMOKİNONUN MOLEKÜLER ETKİ MEKANİZMALARI

Timokinonun etki mekanizması karmaşıktır. Timokinonun patofizyolojik durumlarda birden fazla faktörü hedef aldığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Başlıca etkileri; hücre döngüsü ve çoğalması,



ŞEKİL 2: Timokinonun kimyasal yapısı.

anjyogenez, apoptoz, migrasyon, invazyon ve metastaz, inflamasyon ve oksidatif stres üzerinedir.

### HÜCRE DÖNGÜSÜ VE ÇOĞALMASI

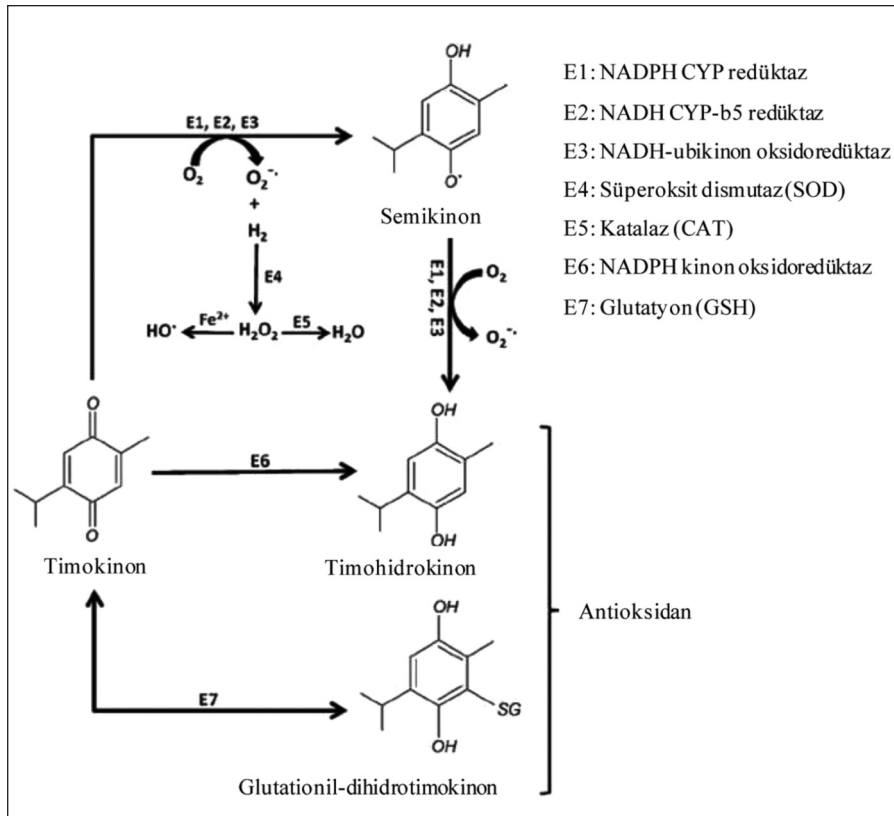
Karsinogenezde hücreler kontrolsüz olarak büyümekte ve çoğalmaktadır. Bu durum tümörün büyüklüğünün artmasına neden olarak antikanser

ilaçla tedavide yanıtı geciktirebilmektedir. Timokinon hücre döngüsünü kontrol eden ve hücre çoğalmasını düzenleyen gen proteinlerin ifadesini (ekspresyonunu/protein miktarını) ve/veya aktivitesini etkileyebilmektedir. Timokinonun, hücre döngüsünün farklı noktalarında (G0/G1, G1/S G2/M) kanser hücrelerini öldürme yeteneklerine sahip olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir.<sup>4,15,16</sup>

### APOPTOZ

P53, hücre döngüsü düzenlenmesi ve apoptozun indüksiyonuyla ilişkilidir. Timokinonun p53 bağımlı ve bağımsız apoptoz mekanizalarını indüklediği bildirilmektedir.<sup>16-19</sup> Timokinon kanserin baskılanmasında preapoptotik faktörleri ve/veya antiapoptotik proteinleri azaltarak, ayrıca kaspaz yollarını düzenleyerek önemli rol oynamaktadır.<sup>16,17,20-25</sup>

Timokinon konsantrasyonuna bağlı olarak antioksidan veya prooksidan özellik göstermektedir. Timokinonun düşük konsantrasyonlarında antiok-



ŞEKİL 3: Timokinonun biyotransformasyonu.

sidan olduğuna dair oldukça fazla çalışma bulunmaktadır, ancak timokinonun yüksek konsantrasyonlarında prooksidan olarak etki gösterdiğine dair çalışmalar az da olsa mevcuttur. Timokinonun apoptotik hücre ölüm mekanizmasında, kendisinin oksidan özelliğinin neden olabileceği ileri sürülmektedir.<sup>26</sup> Reaktif oksijen türleri [reactive oxygen species (ROS)] üretiminin bir sonucu olarak apoptoz oluşabilmektedir. Timokinonun antioksidan/prooksidan rolü çevre koşullarına bağlıdır.<sup>27</sup> Timokinon ve benzeri semikinon radikallerinin kanser hücrelerinde ROS üreterek apoptozu indükleyebildiği gösterilmiştir.<sup>28</sup> Timokinona bağlı ROS oluşumu hücre canlılığının devamlılığını sağlayan genlerin düşük ekspresyonuna, proapoptotik proteinlerde konformasyonel değişikliklere, kaspaz-9 ve -3 aktivasyonu ile mitokondriyal membran potansiyel kaybına, poli(ADP-riboz) polimeraz parçalanmasına ve kaspaz bağımlı apoptoza neden olabilmektedir.<sup>23,29,30</sup>

### ANJİYOGENEZ

Tümörün büyümesinde oksijen ve besin sağlamada anjiyogenez önemlidir. Timokinonun antianjiyogenik etkisi gösterilmiştir. Timokinon, damar endotel büyüme faktörü [vascular endothelial growth factor (VEGF)]'nin selektif blokörüdür (VEGF pro-anjiyogenik anahtar bir moleküldür); bu, hücre çoğalması ve koloni oluşturmasını bozan bir durumdur.<sup>31</sup> Anjiyogenezde endotel hücre göçü önemli bir aşamadır ve timokinon insan umbilikal damar endotel hücre göçünü, yayılmasını ve tüp oluşumunu etkili bir biçimde engellemektedir.<sup>28</sup> Timokinonun in vitro ve in vivo anjiyogenezi engellediği ve böylece tümör büyümesini önlediği bildirilmiştir.<sup>32,33</sup>

### MİGRASYON, İNVAZYON VE METASTAZ

Timokinonun kanser metastazı ve invazyonunu kontrol altına alabildiği bildirilmiştir.<sup>34,35</sup>

### İNFLAMASYON VE OKSİDATİF STRES

Oksidatif stresin ve inflamasyonun azaltılması çeşitli kronik hastalıkları önlemede rasyonel bir yaklaşımdır. Hücreler, inflamasyon ve oksidatif strese karşı gelişmiş bir koruyucu sisteme sahiptir. Timokinonun hücrel antioksidan savunmayı artırarak

ve sitoprotektif proteinleri aktive ederek ve/veya ekspresyonunu indükleyerek oksidatif stresi önlediği bildirilmektedir.<sup>36-38</sup>

## TİMOKİNONUN FARMAKOLOJİK ETKİLERİ

*Nigella sativa L.* tohumlarından elde edilen uçucu yağların ve timokinonun antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antihistaminik, antikanser gibi birçok farklı farmakolojik aktiviteye sahip olduğu birçok çalışmada gösterilmektedir.

### ANTIOKSİDAN ETKİSİ

Ortaklanmamış elektronları nedeni ile oldukça kararsız bir yapı gösteren serbest radikallerin biyolojik yapılarda meydana getirdiği oksitleyici hasarlar, özellikle kardiyovasküler bozukluk ve kanser gibi birçok hastalığa neden olabilmektedir. Serbest radikaller elektriksel olarak yüklü olup, hücre membranını geçebilmekte ve hücre bileşenleri (nükleik asit, protein ve enzim gibi) ile reaksiyona girerek yıkım oluşturabilmektedir.<sup>3</sup>

Çörek otunun antioksidan etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. Timokinonun konsantrasyona bağımlı olarak demir-ilişkili lipit peroksidasyonunu engellediği rapor edilmiştir.<sup>39</sup> Timokinonun peroksinitrit (ONOO-) ile indüklenen histon-A2 hasarını anlamlı olarak azalttığı ve tirozin, lizin, arjinin, prolin ve treonin amino asitlerinin oksidatif hasarını önleyebileceği bildirilmiştir.<sup>40</sup> Timokinon, süper oksit anyonu, hidroksil radikali ve moleküler oksijen gibi birçok ROS'nin süpürücüsüdür.<sup>48</sup> Çeşitli mekanizmalar ile timokinonun güçlü bir antioksidan olduğu bildirilmektedir. Bazı hastalıklarda ROS düzeylerinin yükselmesinden kaynaklanan yan etkileri timokinonun antogonize edebildiği ve bu özelliğini timokinonun oksidatif stresi azaltarak ve antioksidan savunmayı artırarak gösterebildiği bildirilmektedir. Timokinonun antioksidan etki potansiyelinin, molekül yapısındaki kinonun redoks özellikleriyle ve timokinonun fizyolojik bariyerlerden ve subseleüler kompartmanlara kolay geçmesi ile ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir.<sup>4</sup>

Glutasyon molekülü hücrel koruyucu mekanizmalarda önemli işlevlere sahiptir ve karaciğerde



yüksek düzeylerde bulunmaktadır. Glutasyonun tükenmesi ve takiben artan oksidatif stres; toplam tiyol bileşenin azalmasına, protein inaktivasyonuna, protein oksidasyonuna, lipid peroksidasyonuna, kalsiyum hemostazında bozulmaya ve hücre canlılığının kaybına neden olabilmektedir. Timokinon tedavisinin sonucu olarak malondialdehitin azaldığı, toplam tiyol bileşen ve glutasyon seviyesinin arttığı ve böylece oksidatif stresin azaldığı bildirilmiştir. Timokinon ile serbest radikallerin azaltılmasının, bu radikallerin DNA'ya saldırma riskini ve böylece bazı kanserlerin riskini azaltabileceği ileri sürülmektedir. Timokinonun, reaktif genotoksik radikal türevleri aracılı birçok ksenobiyotik biyotransformasyonunda rol alan hepatik CYP1A1/A2 izozimlerinin aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir.<sup>8</sup>

Timokinonun, parazitlerin neden olduğu karaciğer hasarını azalttığı ve antiparaziter etkisinde timokinonun antioksidan özelliklerinin sorumlu olduğu gösterilmiştir.<sup>41</sup>

Timokinonun, katalaz [catalase (CAT)] aktivitesini artırdığı gösterilmiştir ve timokinon tedavisinin iskemi-reperfüzyon (I/R) yaralanmasına karşı karaciğer dokusunu koruyabileceği ileri sürülmüştür.<sup>42</sup> Ayrıca, timokinonun CYP3A1 ve spermidin/spermin N-1-asetil-transferaz (SSAT) gen ekspresyonunu azaltarak, antioksidan mekanizma aracılı böbreği I/R ile indüklenen hasara karşı koruyabileceği de gösterilmiştir. I/R maruziyetinde CYP3A1 mRNA ekspresyonu, hem böbrek hem de karaciğer dokusunda önemli derecede indüklenmektedir. I/R, böbrek ve karaciğer dokusunda poliamin değişikliğine katılan katabolik bir enzim olan SSAT'nin mRNA ekspresyonunun indüksiyonuna neden olmaktadır. Timokinonun, karaciğer ve böbrekte SSAT mRNA ekspresyonunu belirgin derecede azalttığı gösterilmiştir.<sup>43</sup>

Timokinonun terbutilepoksit ile oksidatif strese maruz bırakılan izole edilmiş sıçan hepatositlerinde azalan hücre-içi glutasyon düzeyini artırarak ve oluşan piridin nükleotidlerinin oksidasyonunu engelleyerek hepatosit hücre membran bütünlüğünü koruyabildiği gösterilmiştir.<sup>44</sup>

Timokinonun, oksidatif streste rolü olan indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu engelleyebildiği ve glutasyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırabildiği; ayrıca, NADH düzeyini ve NADH-NAD<sup>+</sup> değişimini azaltarak hepatositlerde lipogenez inhibisyonuna neden olduğu da gösterilmiştir.<sup>45</sup>

Timokinon, oksidatif hasara karşı birden fazla hücre, doku ve organ üzerinde koruyucu etkilere sahiptir. Timokinonun sisplatin, doksorubisin, gentamisin, vankomisin ve civa klorürün neden olduğu böbrek toksisitesine, karbon tetraklorür, siklofosfamid, asetaminofen ve aflatoksin B1 ile indüklenen hepatotoksisiteye ve siklofosfomid ve doksorubisinin kalp toksisitesine karşı koruyucu etkileri bulunmaktadır.<sup>46</sup> Timokinonun siklofosfamid, toluen ve bleomisin kaynaklı akciğer hasarını azalttığı, benzopiren kaynaklı mide tümörlerini engellediği ve gentamisin ototoksitesini engelleyerek koruyucu rol aldığı yapılan çalışmalarda bildirilmektedir.<sup>4</sup> Timokinon başlangıç tedavisinin (5 mg/kg) kolon tümörlerinin başlangıç evresinde oluşan 1,2-dimetil hidrazin kaynaklı oksidatif stresi azalttığı ve kolon displazi (anormal doku büyümesi) derecesi ve tümör insidansını düzelttiği bildirilmiştir.<sup>47</sup> Timokinonun uzun süreli toluen maruziyeti sonrası oluşturulan hipokampal nörodejenerasyon modelinde, antiinflamatuvar ve antioksidan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.<sup>48</sup> Ayrıca, çörek otu ve timokinonun radyasyona maruziyetle oluşturulan sıçan beyin dokusundaki nitrosatif strese karşı antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir.<sup>49</sup>

Timokinonun antioksidan özellikleri özetle şu şekilde sıralanabilir; demir ilişkili lipid peroksidasyonunu engellemesi, toplam tiyol bileşeni ve GSH seviyesini artırması, radikal süpürücü olması, karaciğer CYP1A1/A2 izozimlerinin aktivitesini engellemesi, iNOS ekspresyonunu engellemesi, kinon redüktaz, CAT, SOD ve glutasyon transferaz aktivitelerini artırması, hepatositlerde lipogenezi engellemesidir.<sup>8</sup>

#### ANTİMİKROBİYAL ETKİSİ

Timokinonun, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Peudomonas aeru-*

*ginosa* ve *Bacillus subtilis* dâhil bazı bakteriyel suşlara karşı antibakteriyel ve özellikle gram-pozitif koklara karşı önemli bakterisidal aktivite gösterdiği gösterilmiştir.<sup>50,51</sup> Böbrek epitelyum hücrelerine tutunabilen *Streptococcus pyogen*'lerin sayısı timokinon kullanımı ile doza bağımlı olarak azalmıştır.<sup>52</sup>

Prostat hastalıklarına bağlı mortalitede prostatitler önemli rol oynamaktadır. Timokinonun antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile *P. aeruginosa* kaynaklı akut bakteriyel prostatitleri düzelttiği gösterilmiştir.<sup>53</sup>

Timokinonun *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı antitüberküloz aktiviteye sahip olduğu, *Candida krusei*, *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* ve patojenik dermatofit suşlara (*Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* gibi) karşı antifungal aktivite gösterdiği bildirilmektedir.<sup>54,55</sup>

Ayrıca, *Schistosoma mansoni* ile enfekte farelerde çörek otu yağı ve timokinonun anti-şistozomiaz etkisi bildirilmiştir.<sup>56</sup>

#### ANTIİNFLAMATUAR ETKİSİ

Timokinonun antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir.<sup>57</sup> İnflamasyon, siklooksijenaz [cyclooxygenase (COX)] ve lipooksijenaz (LO) olmak üzere başlıca iki enzim tarafından düzenlenmektedir. COX yolunda prostaglandinler (PG) sentezlenir iken, LO yolunda ise lökotrienler sentezlenmektedir. Timokinon, hem COX hem de LO yollarını inhibe etmektedir; tromboksan B2 ve LT-B4 olarak adlandırılan eikozanoid üretimi güçlü bir şekilde inhibe edilmektedir.<sup>4,8</sup>

Timokinon, malondialdehit ve lipid peroksidasyon ürünlerini, nükleer faktör-kappa B (NF-κB) aktivitesini azaltarak sitokinlerin miktarını azaltmaktadır. Karaciğerde mitokondriyal sitokrom C aracılı ROS oluşumunu inhibe etmekte ve böylece inflamasyonda azalma sağlamaktadır.<sup>58,59</sup>

Yapılan çalışmalarda, timokinonun antiinflamatuvar etkileri allerjik akciğer inflamasyonlu fare modelinde gösterilmiştir. Timokinonun akciğerdeki inflamatuvar hücre infiltrasyonunu, Th2 sitokinleri ve akciğer eozinofilisini azaltarak allerjik astımda pulmoner inflamasyonu azalttığı bildiril-

miştir. Ayrıca, serumdaki yükselmiş immünglobulin (Ig)G1 ve ovalbümin (OVA) spesifik IgE seviyelerini azaltmıştır. Bronkoalveolar lavaj sıvısında interferon gama (IFN-γ) üretiminin indüklediği ve interlökin (IL)-4, IL-5 ve IL-13 üretimini azalttığı gösterilmiştir. Timokinonun LT-C4 ve LT-B4 üretimini ve 5-LO ekspresyonunu azaltarak hava yolundaki inflamasyonu düzelttiği bildirilmiştir.<sup>60,61</sup>

Timokinon uygulanmasının IgE, histamin ve sitokinlerin seviyesini azaltarak allerjik konjonktivitteki göz semptomlarını önemli ölçüde hafiflettiği gösterilmiştir.<sup>62</sup>

Timokinonun antiinflamatuvar etkilerinde özetle; COX ve LO'yu engellemesi, ROS oluşumunu ve sitokin üretimini azaltması sıralanabilmektedir.

#### ANTİKANSER ETKİSİ

Timokinon, çeşitli kanser hücrelerinde farklı moleküler hedefleri düzenlemektedir ve antikanser aktivitesinde birçok karmaşık mekanizmalar ileri sürülmektedir. Kanserde oksidatif stres, nitrosatif stres ve inflamasyon başlıca sorumlu olaylardır. Timokinon hem antioksidan ve antiinflamatuvar etki ile oksidatif stresi azaltmakta ve antioksidan enzimlerin ekspresyonunu ve aktivitesini artırmakta hem de apoptozu indükleyerek hücreleri kanserden korumaktadır (Tablo 4, 5).<sup>26,63-66</sup>

Timokinon, ROS ile indüklenen oksidatif DNA hasarını engelleyerek kanser riskini azaltabilmektedir. Ancak, timokinon süperoksit anyon radikalleri oluşturması sonucu prooksidan özelliği ile DNA hasarına da yol açabilmektedir.<sup>26</sup>

Timokinon zaman ve doz bağımlı olarak sitoplazmik vakuollerin oluşumuna neden olmaktadır. Sitotoksik maddelere maruz kalındığında hücreler kendilerini korumak üzere vakuollerdeki bu maddeleri uzaklaştırmak için girişimde bulunmaktadır. Timokinon lizozom membran geçirgenliğine ve lizozomal proteazların (katepsin B ve D gibi) sızıntısına neden olarak apoptotik hücre ölümünü indüklemektedir.<sup>64</sup>

Timokinonun, doksorubisin ve etoposid antikanser ilaçlarına dirençli insan kanser hücre hattına karşı sitotoksik aktiviteye sahip olduğu rapor

**TABLO 4:** Timokinonun çeşitli kanser hücrelerinde farklı moleküler hedefleri düzenlemesi.

Hedef moleküler yolak	Kanser hücre tipleri	Düzenlenen moleküler hedefler
p53- bağlı	-HCT116 kolorektal kanser hücreleri	-p53 ve p21 up-regüle edilir, Bcl-2 inhibe edilir
p53- bağlı	-p53-null HCT116 kolorektal kanser hücreleri	-Nükleustaki Chek-1 apoptozun direncine neden olur
p53- bağlı	-p53-null MG63 ve p53-mutant MNNG/HOS osteosarkom hücreleri	-P53-mutant, p53-null osteosarkom hücrelerden daha yüksek dirence sahiptir
p53-bağımsız	-p53-null HL-60 miyeloblastik lösemi hücreleri	-Kaspaz 8,9 ve 3 aktive edilir
PTEN	-MCF-7/DOX göğüs kanser hücreleri	-PTEN up-regüle ve p-Akt inhibe edilir
p73	-Akut lenfoblastik lösemi Jurkat hücreleri	-p73 up-regüle ve UHRF1 down-regüle edilir
STAT3	-U266 multipl miyelom hücreleri	-STAT3 ve STAT-regüle gen ürünleri inhibe edilir
NF-κb	-KBM-5 insan miyeloid hücreleri	-NF-κB aktivasyonu ve NF-κB regüle gen ürünleri inhibe edilir
DNA hasarı	-M059J ve M059K glioblastom hücreleri	-Telomerez inhibe edilir ve telomer hasarına neden olur
Mucin-4	-FG/COL0357 pankreatik kanser hücreleri	-Mucin-4 down regüle edilir ve JNK ve p38 aktive edilir
ROS	-Akut lenfoblastik lösemi Jurkat hücreleri - DLD-1 insan kolon kanser hücreleri	-Mitochondri membran potansiyel kaybına neden olur - JNK ve ERK fosforilasyonu artırır
TGF-β/Smas2/3	- DU145 ve PC3 prostat kanser hücreleri	- TGF-β down-regüle edilir

**TABLO 5:** *Nigella Sativa L.*'nin antikanser aktivitesinde ileri sürülen mekanizmalar.

Mekanizmalar	Etki
- Timidinin inhibisyonuyla DNA sentezinde hatalar ve DNA sentezi sırasında birleşme	- Kanserli hücre büyümesinin inhibisyonu
- E2F-1 proteini ve androjen reseptörlerinin down-regülasyonu	- Kanser hücre apoptozu
- Bc12 ve diğer antiapoptotik genlerin down-regülasyon ekspresyonu	- Kanser hücre ölümü
- Apoptotik gen ifadesinin up-regülasyonu (kaspaz-3,8,9 ve Bax)	- Kanser hücre apoptozu ve ölümü
- AKT ve ekstraselüler sinyal düzenleyen kinazın aktivasyonunun önlenmesi	- Kanser hücre ölümü
- Çeşitli kanserojen maddeler ile indüklenen NF-κB'nin aktivasyonunun inhibisyonu	- Onkogen ekspresyonu ve kanser kontrolü
- SOD, CAT, GPx gibi antioksidan enzim aktivitelerinin artması	- Artmış antioksidan enzim aktivitesi ile kansere karşı hücreleri koruması
- Tümör anjiyogenez ve hücre invazyonunun inhibisyonu	- Metastaz inhibisyonu
- Alfa-hederin kanserli hücrelerde ROS üretimini artırır	- Mitochondriyal fonksiyonların bozulması ve apoptozu neden olur
- C-Jun NH (2)-terminal kinaz ve p38 mitojen-aktive protein kinaz yolağının aktivasyonu	- Kanser hücrelerinin apoptozu

NF-κB: Nükleer faktör-kappa B; SOD: Süperoksit dismutaz; CAT: Katalaz; ROS: Reaktif oksijen türleri.

edilmiştir. Sıçanlarda, %0,01 verilen timokinonun, benzo-(α)-pirene maruziyette oluşan mide kanserine karşı mide kanserinin başlangıç ve ilerlemesini düşürdüğü gösterilmiştir. Timokinonun kolon kanseri tedavisinde kullanılan iyi bilinen bir ilaç olan 5-fluorourasil ile eş değer olduğu ve SW-626 kolon kanser hücre hattına karşı antitümör aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca, timokinon, HepG2 hücre hattında doza bağlı olarak önemli antitümör aktivite göstermiştir. Başka bir çalışmada, timokinonun, normal insan intestinal FHs74Int hücrelerine sitotoksik etki göstermeden insan kolon kanser hücrelerinin (CaCo-2,DLD-1,HCT-

116, HT-29 ve LoVo) büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>6</sup>

#### ANTİFİBROTİK ETKİSİ

Timokinon antifibrotik etki göstermektedir. Bai ve ark.nın çalışmasında, timokinonun sıçan karaciğer stellat hücrelerinde fosfoinositid-3 kinazı (PI3K) engelleyerek ve toll-benzeri reseptör 4 [toll like receptor (TLR4)] sinyal yolağını düzenleyerek karaciğer fibrozunu azalttığı gösterilmiştir.<sup>67</sup> Bu çalışmada; timokinon apoptozu indüklemiş, CD14 ve TLR4'ün ekspresyonunu azaltmış ve kollajen-I ve PI3K ekspresyonunu ve Akt (protein kinaz B)



fosforilasyonunu baskılamıştır. Ayrıca, timokinon serum alanin transminaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) seviyesini düşürmüştür. Timokinon, tiyoasetamid nedenli karaciğer fibrozunu ve inflamasyonunu oldukça azaltmıştır, TLR4'ün ekspresyonunu düzenlemiştir, PI3K fosforilasyonunu inhibe etmiştir, LKB1-AMPK (karaciğer kinaz B1-AMP aktive protein kinaz) sinyal yolağını aktive etmiştir ve ekstraselüler matriks toplanmasını azaltmıştır.<sup>68</sup> Timokinonun katı lipit nanopartikül formüllerini parasetamolün indüklediği karaciğer sirozu ve fibrozunu inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>12</sup>

### ANTİHİSTAMİNİK ETKİSİ

Histamin, bazofil ve mast hücrelerinden salınan ve allerjik reaksiyonlardan sorumlu bir otakoiddir. Timokinonun bazı antiinflamatuvar etkileri histamin üretimi ve/veya salınmasının inhibisyonuna bağlıdır. Timokinon OVA maruziyetli farelerde histamini düşürerek allerjik konjonktivitin belirtilerini hafifletmiştir.<sup>62</sup> Ayrıca, timokinonun sıçanlarda histamin ve platelet aktive edici faktör salınımını inhibe ederek, asetik asit ile oluşan koliti engellediği gösterilmiştir.<sup>69</sup>

### HİPOLİDEMİK ETKİSİ

Timokinonun antioksidan aktivitesi nedeni ile tavşanlarda yüksek kolesterolü diyet ile indüklenen hepatik oksidatif stresi azalttığı ve plazma kolesterol seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir.<sup>70</sup>

Timokinonun (100 mg/kg vücut ağırlığı) etanol ve yüksek yağlı diyet ile birlikte takviyesinde serum lipaz, amilaz ve kaspaz-1 seviyelerinin belirgin düştüğü ve yüksek yağlı diyet ile indüklenen patolojik değişikliklere karşı pankreası koruduğu ve diyabetik sıçanlarda kolesterol düşürücü etki meydana getirdiği bildirilmiştir.<sup>71</sup> Timokinonun kolesterol ile beslenen tavşanlarda ateroskleroz gelişiminde koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir ve timokinonun hiperlipidemi ve ateroskleroz oluşumu önleyebileceği düşünülmektedir.<sup>72</sup>

Timokinon, sıçanlarda hiperlipidemik nefropati üzerine olumlu etkiler göstermiştir. Timokinon (10 mg/kg/gün) tedavisi sonrası total trigliserid, total kolesterol ve böbreklerde lipit peroksidasyonu azalmıştır.<sup>58</sup> Yapılan çalışmalar, timokinonun hi-

perlipidemi ve/veya dislipidemi ve ilişkili komplikasyonların tedavisinde rolünü desteklemiştir.<sup>4</sup>

### HİPOGLİSEMİK VE ANTİDİYABETİK ETKİSİ

Timokinon antihiperglisemik etkiye sahiptir ve gebelik diyabetinde kan glukoz seviyelerini düzeltmektedir. Yapılan bir çalışmada, günlük oral timokinon verilmesinde (30 gün 50 mg/kg) streptozosin ile indüklenen diyabetik hamsterlarda hızlı kan glukoz artışını ve glikozillenmiş hemoglobin seviyesini önemli derecede azaltmıştır. Timokinon ile tedavi edilen hamsterlarda glukoz üretimi önemli derecede düşük bulunmuştur. Bu etkinin insülin etkisine doğrudan bağlı olmadığı ve glukoneojenik enzimlerin sentezinin baskılanmasıyla glukoneogenez azaltarak etki gösterdiği bildirilmiştir.<sup>73</sup>

Timokinonun (80 mg/kg) diyabet oluşturulan sıçanlarda oral yolla 6 hafta uygulanmasının plazma glukozunda önemli azalma ve insülin seviyesinde artma ile sonuçlandığı gösterilmiştir.<sup>74</sup> Timokinonun diyabet oluşturulan sıçanlarda pankreas-b hücrelerinde artan doku malondialdehit (MDA) ve serum glukoz düzeylerini azalttığı ve serum insülinini ve doku SOD seviyelerini artırdığı gösterilmiştir.<sup>75</sup>

Diyabet oluşturulan farelerde timokinonun (20 mg/kg/gün) açlık kan şekeri ve insülin düzeylerini azaltarak glukoz toleransını düzelttiği ve karaciğerde SIRT-1 ve AMPKa fosforilasyonunu artırdığı gösterilmiştir.<sup>76</sup> Streptozosinle indüklenen diyabetik sıçanlarda timokinon tedavisinin COX-2 enzimlerinin ekspresyonunun, lipit peroksidasyonu ve MDA seviyelerinin artmasını engellediği ve pankreas dokusunda SOD seviyesini artırdığı bildirilmiştir.<sup>75,76</sup>

### KALP ÜZERİNE ETKİSİ

İmmün baskılayıcı bir ilaç olan ve transplantasyonda kullanılan siklosporin A ile maruz edilen farelerde, çörek otu yağının kalp üzerinde etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada; kalp dokusunda SOD, CAT ve GPx'in aktivitelerini artırarak ve MDA, nitrik oksit ve protein karbonil seviyelerini azaltarak çörek otu yağının siklosporin A'nın neden olduğu doku hasarını azaltabildiği gösterilmiştir.<sup>77</sup>

## KARACİĞER ÜZERİNE ETKİSİ

Timokinonun karaciğerde koruyucu etkisi bazı çalışmalar ile gösterilmiştir. Timokinonun antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile karaciğer toksisitesini azaltabileceği ileri sürülmektedir. Timokinonun, karaciğer dokusunda çeşitli hasar verici ajanların olumsuz etkilerini düzelttiği bildirilmektedir.<sup>44,78-80</sup>

Timokinon (100 mg/kg) oral uygulanması karbon tetrakloridin (CCl<sub>4</sub>) hepatotoksitesine karşı önemli koruma göstermiştir. Timokinon, nonenzimatik lipid peroksidasyonunu karaciğer dokusunda önlemiştir ve bu, CCl<sub>4</sub> ile indüklenen toksisiteye karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir.<sup>78</sup> Üç hafta boyunca 5 ve 10 mg/kg/gün IP timokinon verilen sıçanlarda lipopolisakkarit ile indüklenen karaciğer hasarını düzelttiği gösterilmiştir.<sup>81</sup> Timokinon, tert-butyl hidroperoksit ile indüklenen toksisiteye karşı izole edilmiş sıçan hepatositlerini korumuştur. Timokinon intraselüler glutatyon tükenmesini önlemiştir ve hücre membran bütünlüğünü koruyarak ALT ve AST'nin sızıntısını azaltmıştır.<sup>44</sup> Timokinonun oral uygulamasında, asetaminofen uygulanan farelerde asetaminofenle indüklenen hepatotoksitesiyi ve nitrat/nitrit oluşumunu azalttığı ve nitrik oksit üretimini engellediği bildirilmiştir.<sup>79</sup>

## BÖBREK ÜZERİNE ETKİSİ

Timokinonun çeşitli patojenik durumlarda böbrek üzerinde koruyucu etkileri bulunmaktadır. Timokinon, çeşitli toksik ajanlardan kaynaklanan renal lezyonlarda oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltıp koruyucu etki göstererek iyileşme sağlamaktadır.<sup>82-85</sup> Timokinonun sıçanlarda mitokondriyal işlevleri düzenleyerek ve adenosin trifosfat [adenosine triphosphate (ATP)] üretimini artırarak gentamisin ile indüklenen akut renal yetmezliği engellediği ve gentamisin ile indüklenen dejeneratif değişiklikleri ve nefrotoksitesiyi azalttığı bildirilmiştir.<sup>82</sup> Timokinonun vankomisin ile indüklenen böbrek hasarına karşı serum kan üre nitrojen, kreatinin ve MDA seviyelerini düşürerek ve böbrek dokusunda SOD ve GPx aktivitelerini yükselterek koruyucu etkileri gösterilmiştir.<sup>83</sup> Çörek otu yağının böbrek dokusunda SOD, CAT ve

GPx'in aktivitelerini artırarak ve MDA, nitrik oksit ve protein karbonil seviyelerini azaltarak siklosporin A'nın neden olduğu böbrek hasarını azalttığı bildirilmiştir.<sup>77</sup> Timokinonun piyelonefritte normal olmayan SOD ve CAT aktivitesini ve MDA seviyelerini düzenleyerek böbreği, piyelonefritin neden olduğu oksidatif hasardan koruduğu bildirilmiştir.<sup>86</sup> Timokinonun, fare böbreklerinde spermetrin ile indüklenen epitel hücre ölümü, glomerüller küçülme ve renal tübüler nekroza karşı koruyucu etkileri gösterilmiştir.<sup>87</sup>

## MİDE BARSAK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Timokinonun mide-barsak sistemi üzerine koruyucu etkisinin olduğunu gösteren birçok kanıt mevcuttur. Timokinon, mide lezyonlarına karşı koruyucu etkilere sahiptir ve bu durum mide mukozasının asit-baz dengesinin korunmasıyla ilişkili olabilmektedir. Timokinonun sıçanlarda I/R ile indüklenen mide disfonksiyonu ve mide ülserlerinde GSH seviyelerini ve SOD aktivitesini artırarak, MDA düzeyini ve miyeloperoksidaz aktivitesini azaltarak antioksidan özelliğine bağlı koruyucu etkisi gösterilmiştir.<sup>36</sup> Timokinon tedavisi ile gastrik I/R aracılı asit konsantrasyonundaki değişiklik, asit üretimi ve pepsin belirgin olarak engellenmiştir. Timokinon mide koruyucu etkisini proton pompası (H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz) inhibisyonuna bağlı olarak göstermiştir. Timokinon, mide oksidatif hasarı azaltarak I/R ile indüklenen lipid peroksidasyonunu engellemiştir, GSH ve SOD tükenmesini önlemiştir. Tüm bu mekanizmalar ile timokinon normal gastrik mukozal bariyer bütünlüğünde koruma sağlamaktadır.<sup>37</sup>

## SİNİR SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Timokinonun nörofarmakolojik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Timokinonun sıçan birincil hipokampal ve insan indüklenmiş pluripotent kök hücreden kaynak alan nöron hücrelerinde koruyucu etkileri gösterilmiştir.<sup>88</sup>

Parkinsonlu hastalardan elde edilen hücre kültürlerinde, birincil dopaminerjik nöronlarda koruyucu olduğu bildirilmiştir. Timokinonun 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP<sup>+</sup>) ve rotenon toksisitesinde kültüre edilmiş dopaminerjik TH immünoaktif hücreleri koruduğu ve timokinonun antioksidan

özelliklerinin bu durumda önemli rol oynadığı görülmüştür.<sup>89</sup>

Timokinon, streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanlarda oksidatif stresi ve nöropatiyi engellemiştir. Ayrıca, norepinefrin ve dopamin seviyelerini azaltmış ve serotonin seviyelerini artırmıştır.<sup>90</sup>

Beta-amiloid (A $\beta$ ) peptitlerin Alzheimer hastalığının patogeneğinde ana rol oynadığı düşünülmektedir ve A $\beta$  ile indüklenen nörotoksositeyi engelleyen bileşikler, Alzheimer hastalığının tedavisi için potansiyel terapötik ajan olabilmektedir. Timokinonun A $\beta$  ile indüklenen toksisiteye ve sinaptik fonksiyonların bozulmasına karşı koruyucu olduğu, ROS üretimini baskıladığı ve TLR aracılıklı sinyal yolağını etkileyebileceği bildirilmiştir.<sup>91,92</sup>

Timokinonun yapılan çalışmalar ile antikonvülsan etkileri gösterilmiştir.<sup>93</sup> Timokinon, gama aminobütirik asit (GABA)erjik ve nitreerjik modülasyon aracılığıyla anksiyolitik aktivite göstermiştir. Timokinon (20 mg/kg), stresli farelerde plazma nitritte azalma ve beyin GABA içeriğinin azalmasının tersine çevrilmesiyle anksiyolitik etkiler göstermiştir. Ayrıca, timokinon antidepresan etkiler göstermiştir.<sup>94</sup>

### ÜREME SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİSİ

*P.aeruginosa* ile indüklenen akut bakteriyel prostatit (ABP), prostat dokusunda oksidatif etkiye sahiptir. Timokinon uygulanmasını takiben biyokimyasal ve histolojik sonuçlar ABP'nin gerilediğini göstermiştir. Timokinon verilen ABP grupları kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında; MDA, SOD ve nitrik oksit (NO) seviyeleri ve GPx aktivitesi normal bulunmuştur.<sup>53</sup>

Timokinonun, antioksidan ve antinflamatuar etkisi ile kadmiyum maruziyetinin zararlı etkilerine karşı testisleri koruduğu bildirilmiştir. Timokinon, kadmiyumla indüklenen serum testosteron düşüşünü azaltmıştır, testis glutatyon ve SOD aktivitesini yükseltmiştir. Ayrıca; testis MDA, NO ve kadmiyum iyon seviyelerinin yüksekliğini azaltmıştır. Timokinon testis dokusunda kadmiyum ile indüklenen iNOS, tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), COX-2 ve NF- $\kappa$ B'nin ekspresyonunu azaltmıştır.<sup>70</sup>

Timokinonun kurşun ile indüklenen sıçan testis işlev inhibisyonuna karşı düzeltici etkileri gösterilmiştir. Timokinon, kurşun ile indüklenen testis steroidojenik ve spermatojenik işlev bozukluğunu önlemiştir. Timokinon, kurşun ile birlikte uygulandığı zaman, düşük plazma testosteron seviyesini önemli derecede artırmıştır ve kurşundan kaynaklanan epididimal sperm sayısını azaltmıştır.<sup>95</sup>

### ANTİNOSESİPTİF ETKİSİ

Çörek otu yağının oral uygulanması; farelerde termal, mekanik, kimyasal nosiseptif uyarıcıların neden olduğu nosiseptif etkilerde baskılayıcı tesir göstermektedir. Çörek otu yağının antinosiseptif etkilerinin timokinona bağlı olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda, çörek otu yağının antinosiseptif etkisinin sedatif etkiden daha çok nosiseptif sistemler ve/veya inflamatuvar mediyatörlerde inhibitör etkisine bağlı olduğu görülmüştür.<sup>9,57</sup>

Formalin testindeki nosiseptif tepkilerin klinik olarak sürekli ağrı formları ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir ve bu nedenle formalin testi timokinon ile daha fazla deneyde kullanılmıştır. Timokinonun doza bağımlı antinosiseptif etkileri gösterilmiştir. Elde edilen bulgular, timokinonun santral mekanizmalar aracılığıyla antinosiseptif aktivite gösterebildiğini ve timokinonun çörek otu yağının antinosiseptif etkisinde önemli rol oynadığını göstermiştir. Timokinon, tromboksan B2 ve LT-B4 gibi eikozanoid oluşumunu inhibe ederek nosiseptif yanıtları hafifletmiştir. Timokinonun antiinflamatuvar etkisinin antinosiseptif etkisiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Güncel çalışmalar, çörek otu yağı ve timokinonun antinosiseptif etkilere sahip olduğunu göstermektedir.<sup>9</sup>

### SOLUNUM YOLU HASTALIKLARINA KARŞI ETKİSİ

Çörek otu tohumları astım ve dispne dâhil solunum yolu problemlerine karşı terapötik etkilere sahiptir. Timokinonun sıçanlarda akut respiratuvar sendromu tedavisinde faydalı olabileceği gösterilmiştir.<sup>96</sup>

Timokinonun, antiapoptotik etki göstererek sıçanlarda kronik toluen maruziyeti kaynaklı akciğer hasarını azalttığı ve timokinonun siklofosamid kaynaklı pulmoner hasara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir.<sup>97,98</sup>

Timokinonun; sıçanlarda bleomisinin indüklediği, pulmoner fibröz ilerleyişini azalttığı, hava alveollerinde amfizemi, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu, bronş etrafındaki lenfoid hiperplastik hücre aktivasyonunu ve bleomisin kaynaklı akciğer dokusunda NF- $\kappa$ B'nin aktif form over-ekspresyonunu önlediği ve glutatyon S-transferaz ve SOD antioksidan enzim aktivitesini normal değerlere düzelttiği bildirilmiştir.<sup>99</sup>

Timokinon akciğerde allerjik yanıtta antiinflamatuvar etkisine bağlı koruyucu özellik göstermektedir. Timokinonun IP enjeksiyonu OVA duyarlı farelerde allerjik havayolu inflamasyonunu azaltmıştır. Bronşiyal astım, kronik hava yolu inflamasyonu ile karakterize bir hastalıktır ve lökotrienler astım patolojisinde rol oynayan etkili inflamatuvar mediyatörlerdir. Yapılan çalışmada, timokinonun, lökotrien biyosentezinde ana enzim olan 5-lipoksijenaz ekspresyonunu inhibe ederek LT-B4 ve LT-C4 seviyelerini düzenlediği gösterilmiştir.<sup>61,62</sup>

#### KEMİK VE EKLEM ÜZERİNE ETKİSİ

Timokinonun, kemikle ilgili bozukluklarda kemik metabolizması, kemik oluşumu ve kemik iyileşmesi üzerinde etkileri bazı çalışmalarda bildirilmiştir. Timokinonun femoral defektli hayvan modelinde fizyolojik yanıtları incelenmiştir ve kemik iyileşmesinde sürekli verilmesinin etkili olduğu görülmüştür. Timokinon ayrıca, osteoklast sayısını azaltmıştır ve osteoblastik aktiviteyi artırmıştır.<sup>100</sup> Timokinon anabolik etkiye sahiptir ve osteoblast hücrelerinin çoğalmasını indüklemiştir. Timokinon, alkalin fosfataz (osteoblastlar için erken belirteç), osteokalsin ve osteopontin (osteoblast farklılaşma aşaması sonrası için fenotipik belirteçler) dâhil osteoblastların olgunlaşması ile ilişkili genlerin ekspresyonunu indüklemiştir. Timokinon, ERK sinyal yolağının aktivasyonu ve BMP-2 ekspresyonun artışıyla hücre olgunlaşması üzerine etkilidir.<sup>101</sup> Timokinonun (10 mg/kg) sistemik uygulanmasının kemik oluşumunu hızlandırabileceği ileri sürülmüştür. Güçlü antioksidan özellikleri timokinon kemik oluşumunun hızlandırılmasında önemli olduğunu ortaya koyabilmektedir. Timokinonun, ROS üretimi ve kemik erimesine neden olan oste-

oklast aktivitesini ve osteoklast prekürsörlerin farklılaşmasına neden olan IL-1 $\alpha$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin seviyesini azalttığı gösterilmiştir.<sup>4</sup>

Timokinonun, antiinflamatuvar mediyatörlerin uyarılması ve proinflamatuvar mediyatörleri inhibe etmesi sonucu kırık/kemik dokuda koruyucu etkilere sahip olduğu görülmektedir.<sup>102</sup>

#### TİMOKİNONUN TOKSİSİTESİNİN VE GÜVENLİLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Timokinon üzerine yapılan çalışmaların çoğunda timokinonun tedavi edici etkilerine odaklanılmıştır. Yapılan çalışmaların çoğunda timokinonun böbrek, karaciğer, kalp, akciğer ve mide gibi birçok organ sisteminde oluşan oksidatif stres kaynaklı hasarları düzeltebileceği bildirilmiştir. Timokinonun antikarsinojenik, antiinflamatuvar, analjezik, hipoglisemik, bağışıklık sistemini güçlendirici gibi birçok faydalı etkileri ileri sürülmekte ve güvenli olduğu bildirilmektedir.<sup>4</sup>

Timokinon toksisitesi üzerine yapılan çalışmalarda, toksik etkileri ancak çok yüksek dozlarında gösterilebilmiştir. Timokinon yüksek dozlarında seçici sitotoksik etki göstermektedir. Timokinonun; osteoblast, fare böbrek hücreleri, insan akciğer fibroblastları ve Vero hücreleri gibi normal hücrelerde sitotoksikite göstermeden tümör hücrelerini etkili bir biçimde öldürebildiği bildirilmiştir.<sup>4</sup>

Timokinonun vücutta biyotransformasyona uğraması sırasında oluşan ROS'ler oksidatif stresi artırabilmektedir. Timokinonun yüksek dozlarında antioksidan enzimleri tüketebilmekte ve hepatositlerde DNA hasarına neden olabilmektedir.<sup>103</sup>

Çörek otu tohumu ve yağı düşük toksisiteye sahiptir. Uygulama yolu timokinonun toksisite sonuçlarını etkilemektedir. Timokinonun yüksek dozlarının in vivo çalışmalarda karaciğer hasarına neden olduğu bildirilmektedir.<sup>4,104</sup>

Timokinonun sıçanlarda IP uygulanmasında sistemik dolaşıma geçmesi sonucu akut pankreatite neden olduğu gösterilmiştir.<sup>105</sup> Sıçanlarda timoki-



nonun 10-100 mg/kg dozlarda oral alımda toksik ve letal etkiler göstermediği bildirilmiştir.<sup>4</sup>

Çörek otu tohumu ekstresinin (50 mg/kg) farelere 5 gün boyunca IP uygulanmasında böbrek ve karaciğer fonksiyon biyogöstergelerini etkilemediği gösterilmiştir.<sup>106</sup> Diğer bir çalışmada, çörek otunun sabit yağının 10 mL/kg dozda oral uygulanmasında 12 haftaya kadar sıçanlarda mortaliteye veya histopatolojik değişikliklere, ALT, AST ve GSH dâhil temel karaciğer enzimlerinde önemli değişmelere neden olmadığı rapor edilmiştir.<sup>107</sup>

Gali-Muhtasib ve ark.nın yaptığı çalışmaya göre, timokinonun ardışık 20 gün uygulanmasında Balb/c farelerinde ölüme yol açmadığı veya ortalama vücut ağırlığında değişime neden olmadığı ve timokinonun farelerde iyi tolere edilebildiği bildirilmiştir.<sup>108</sup>

Akut toksisite çalışmalarında, timokinonun farelerde oral LD<sub>50</sub> (1,52–3,77 doz aralığında çalışılmıştır) değeri 2,4 g/kg olarak ve sıçanlarda IP LD<sub>50</sub> değeri 10 mg/kg olarak bildirilmiştir (Tablo 6).<sup>4,109</sup> Ancak, Mansour ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmada, timokinonun 4, 8, 12,5, 25 ve 50 mg/kg IP dozlarda serum (ALT ve LDH) biyokimyasal parametreleri değiştirmedeği ve 50 mg/kg üzeri dozlarda IP enjeksiyonda toksik etki gösterdiği ve IP LD<sub>50</sub> değeri 90,3 mg/kg olarak bildirilmiştir.<sup>110</sup> Farelerde çörek otu yağının IP LD<sub>50</sub> değeri, 2,06 mL/kg ve oral LD<sub>50</sub> değeri 28,8 mL/kg olarak bildirilmiştir.<sup>111</sup> Al-Ali ve ark. tarafından, timokinonun farelerdeki IP LD<sub>50</sub> değeri 104,7 mg/kg

ve oral LD<sub>50</sub> değeri 870,9 mg/kg; sıçanlarda ise IP LD<sub>50</sub> değeri 57,5 mg/kg ve oral LD<sub>50</sub> değeri 794,3 mg/kg olarak bildirilmiştir.<sup>112</sup>

Badary ve ark.nın yaptığı çalışmaya göre, farelerin içme suyuna 3 ay %0,03'e kadar timokinonun eklenmesiyle plazma glukoz konsantrasyonunda hızlı azalma gözlenmiştir; ancak bu etki haricinde önemli bir toksisite belirtisi veya mortalite görülmemiştir.<sup>109</sup>

Yapılan başka bir çalışmada, 14 hafta boyunca 200 mg/kg/gün çörek otu yağı ile verilen erkek sıçanların karaciğer, böbrek, dalak ve diğer organlarda patolojik değişikliklere neden olmadığı ve kan biyokimyasını etkilemediği bildirilmiştir.<sup>111</sup>

Sıçanlara 12 hafta boyunca 2 mL/kg/gün çörek otu yağının oral dozu verilerek yapılan bir kronik toksisite çalışmasında; histopatolojik modifikasyonlar, ALT, AST ve GSH dâhil karaciğer enzim düzeylerinde değişiklikler gözlenmemiştir. Serum kolesterol, trigliserid ve glukoz seviyeleri ve trombosit, lökosit miktarı kontrol değerlere kıyasla önemli derecede düşük bulunmuştur. Hemoglobin ve hematokrit değerleri önemli derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca, kontrol gruptaki hayvanlara kıyasla çörek otu yağı verilen grupta vücut ağırlığı artışında düşme gözlenmiştir.<sup>107</sup>

Timokinonun erkek ve dişi sıçanlar 20, 30 ve 40 mg/kg tek doz IP enjeksiyonunu takiben 5 gün izlenmiştir. Timokinonun 30 ve 40 mg/kg doz uygulaması sonrası, 72 saat içinde sinirlilik, uykusuzluk, piloereksiyon ve hafif karın şişmesi gibi toksisite belirtileri ortaya çıkmıştır. Deneyin 3. ve 4. günlerinde sıçanların vücut ağırlığında ortalama 17,3±4,6 g azalma gözlenmiştir. 20 mg/kg timokinon uygulanan dişi sıçanların %25'inde toksisite belirtilerinin görüldüğü, ancak erkek sıçanların hiçbirinde bu toksisite belirtilerinin görülmediği bildirilmiştir. Timokinonun erkek ve dişi sıçanlar 200, 300 ve 500 mg/kg tek oral dozu takiben 5 gün izlenmiştir. Kırk sekiz saat içinde ağırlıkta artış, diyare, hipoaktivite, hafif karın şişliği, dispne görülmüştür. Sonrasında, sıçanların ağırlıkları normale dönmüştür ve toksisite belirtileri deneyin 5. gününe kadar kaybolmuştur. Bir erkek ve dişi sıçanda 500 mg/kg dozda ölüm görülmüştür.<sup>105</sup>

**TABLO 6:** Timokinon ve çörek otu yağının LD<sub>50</sub> değerleri.

	Deney hayvanı	Uygulama yolu	LD <sub>50</sub>
Timokinon	Sıçan	IP	57,5 mg/kg <sup>112</sup>
Timokinon	Sıçan	IP	10 mg/kg <sup>4</sup>
Timokinon	Fare	IP	104,7 mg/kg <sup>112</sup>
Timokinon	Fare	IP	90,3 mg/kg <sup>110</sup>
Çörek otu yağı	Fare	IP	2,06 mL/kg <sup>111</sup>
Timokinon	Sıçan	Oral	794,3 mg/kg <sup>112</sup>
Timokinon	Fare	Oral	870,9 mg/kg <sup>112</sup>
Timokinon	Fare	Oral	2,4 g/kg <sup>109</sup>
Çörek otu yağı	Fare	Oral	28,8 mL/kg <sup>111</sup>



Timokinonun nanoemülsiyon formülasyonunun akut toksisitesi erkek ve dişi sıçanlarda araştırılmıştır. 44,5 mg timokinon içeren preparatın oral yoldan tez doz uygulanmasını takiben sıçanlar 14 gün boyunca incelenmiştir. Tüm hayvanlar sağlıklı olarak kaydedilmiştir. Mortalite ve herhangi bir toksisite gözlenmemiştir. Genel davranışlar, vücut ağırlığı, yiyecek ve su tüketimi, organ ağırlığı, hematoloji, histopatoloji ve klinik biyokimyasal parametrelerde değişiklik belirlenmemiştir. 44,5 mg timokinon içeren timokinonun nanoemülsiyon formülasyonunun toksik olmadığı sonucuna varılmıştır.<sup>113</sup>

Timokinonun temas allerjen olduğu bildirilmektedir. 4 hafta, haftada 2 kez, 2,5 uL çörek otu yağına maruz bırakılan sıçanlarda; nötrofilleri ve splenositleri düşürdüğü ve periferik lenfosit ve monositleri artırdığı bildirilmiştir.<sup>114</sup>

Saf çörek otu yağının topikal kullanımından sonra makülopapüler ekzama belirtisine sahip 2 allerjik temas dermatit vaka raporu bildirilmiştir.<sup>104</sup> Temas dermatit vakalarının, esansiyel yağ içeren ve marketlerde cilt hastalıklarını tedavi edici diye satılan kozmetik ve parfümlerin kullanımı ile ortaya çıktığı bildirilmektedir. Bu vakalar topikal kortikosteroid uygulaması ile tedavi edilmiştir.<sup>115,116</sup>

Sıçanlarda üreme toksisitesi yönünden gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz değeri IP 15 mg/kg'dır.<sup>117</sup> Maksimum tolere edilebilir dozu IP enjeksiyonda erkek sıçanlarda 22,5 mg/kg, dişi sıçanlarda 15 mg/kg, oral alımda ise erkek ve dişi sıçanlarda 250 mg/kg olarak bulunmuştur.<sup>4</sup> Yüksek dozda timokinon akut uygulanması (2 g/kg ve fazlası) hipoaktiviteye ve solunum zorluğuna neden olmuştur.<sup>9,104</sup>

Oral ve dermal maruziyetinde güvenliliğine dair bilgi olmadığından gebelikte ve emzirme döneminde kullanımı sakıncalıdır. Yi ve ark. timokinonun antianjiyogenik etkisi nedeni ile gebelikte kullanımının sakıncalı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Sıçan ve kobaylarda, uterus düz kasılmasını doza bağımlı inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>118</sup>

## SONUÇ

*Nigella sativa L.* tohumunun baharat olarak ve ayrıca bazı hastalıklarda faydalı farmakolojik etkileri nedeni ile geleneksel olarak yaygın kullanımı söz konusudur. Timokinon; *Nigella sativa L.* tohumunun uçucu yağından elde edilen, yüksek antioksidan özelliğe sahip ana aktif fenolik bir bileşiktir.

Timokinonun birçok çalışmada antiinflamatuar, antimikrobiyal ve antikanser gibi faydalı etkilere sahip olduğu ileri sürülmektedir. Timokinonun oksidatif hasara karşı böbrek, karaciğer, kalp, akciğer ve mide üzerinde koruyucu etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Fenolik bileşiklerin DNA hasarını önleyebildiği, DNA onarım mekanizmalarını düzenleyebildiği ve kanser oluşum sürecini engelleyebildiği iddia edilmektedir. Timokinon, olası antikanser etkisi nedeni ile araştırmaların ilgi odağıdır. Kanser tedavisinde, diğer antikanser ilaçlarla birlikte kullanımına dair yaklaşımlar ileri sürülmektedir. Timokinonun sitotoksitesisi ve genotoksitesisi üzerine pek çok olası mekanizmalar sorumlu tutulmuştur. Birçok çalışmada, çörek otu yağı ve timokinonun DNA hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmektedir. Timokinonun serbest radikalleri süpürerek bu radikallerin neden olabileceği DNA hasarını ve böylece kanser oluşma riskini azaltabileceği öngörülmektedir.

*Nigella sativa L.* tohumlarından elde edilen timokinon üzerine yapılan çalışmaların çoğunda birçok faydalı farmakolojik aktiviteye sahip olduğu, toksik etkilerini ancak çok yüksek dozlarında gösterebileceği bildirilmektedir. Çörek otu tohumu ve yağı düşük toksisiteye sahiptir. Hayvanlarda yapılan çalışmalara göre, çörek otu tohumunda bulunan timokinonun gıda olarak tüketildiğinde oldukça güvenli olduğu görülmektedir. Timokinonun temas allerjen olabileceği bildirilmektedir. Oral ve dermal maruziyetinde güvenliliğine dair bilgi yeterli olmadığından, gebelikte ve emzirme döneminde kullanımı önerilmemektedir.

Sonuç olarak, çörek otu tohumunun ve timokinonun insan sağlığı üzerine olası etkilerinin olabileceği görülmektedir. Çeşitli metabolik yollar üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi açı-

sından daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca, çörek otu tohumu ve etkin bileşenlerinin ilaç olarak kullanılabilmesi için yapısındaki etkin bileşiklerinin belirlenerek ve standardize edilerek, klinik ve toksikolojik çalışmaları da kapsayacak şekilde ileri araştırma aşamalarından geçmesi ve kalite, etkililik ve güvenilirlik açısından değerlendirilmesi gerekmektedir.

### Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

### Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

### Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** Pelin Güzelsoy, Sevtap Aydın, Nurşen Başaran; **Tasarım:** Sevtap Aydın, **Denetleme/Danışmanlık:** Pelin Güzelsoy, Sevtap Aydın, Nurşen Başaran; **Analiz ve/veya Yorum:** Pelin Güzelsoy, Sevtap Aydın, Nurşen Başaran; **Kaynak Taraması:** Pelin Güzelsoy, Sevtap Aydın; **Makalenin Yazımı:** Pelin Güzelsoy, Sevtap Aydın, Nurşen Başaran; **Eleştirel İnceleme:** Sevtap Aydın, Nurşen Başaran; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Sevtap Aydın.

## KAYNAKLAR

- Forouzanfar F, Bazzaz BS, Hosseinzadeh H. Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects. *Iran J Basic Med Sci* 2014;17(12):929-38.
- Khader M, Eckl PM. Thymoquinone: an emerging natural drug with a wide range of medical applications. *Iran J Basic Med Sci* 2014;17(12):950-7.
- Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol* 2005;5(13-14):1749-70.
- Darakhshan S, Bidmeshki Pour A, Hosseinzadeh Colagar A, Sisakhtnezhad S. Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacol Res* 2015;95-96:138-58.
- El-Tahir KEH, Bakeet DM. The black seed *Nigella sativa* Linnaeus--a mine for multi cure: a plea for urgent clinical evaluation of its volatile oil. *J Taibah University Med Sci* 2006;1:1-19.
- Shafiq H, Ahmad A, Masud T, Kalem M. Cardio-protective and anti-cancer therapeutic potential of *Nigella sativa*. *Iran J Basic Med Sci* 2014;17(12):967-79.
- Gerige SJ, Gerige MKY, Rao M, Ramanjaneyulu. GC-MS analysis of *Nigella sativa* seeds and antimicrobial activity of its volatile oil. *Braz Arch Biol Technol* 2009;52(5):1189-92.
- Mollazadeh H, Hosseinzadeh H. The protective effect of *Nigella sativa* against liver injury: a review. *Iran J Basic Med Sci* 2014;17(12):958-66.
- Abdel-Fattah AM, Matsumoto K, Watanabe H. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *Eur J Pharmacol* 2000;400(1):89-97.
- Salmami JM, Asghar S, Lv H, Zhou J. Aqueous solubility and degradation kinetics of the phytochemical anticancer thymoquinone; probing the effects of solvents, pH and light. *Molecules* 2014;19(5):5925-39.
- Odeh F, Ismail SI, Abu-Dahab R, Mahmoud IS, Al Bawab A. Thymoquinone in liposomes: a study of loading efficiency and biological activity towards breast cancer. *Drug Deliv* 2012;19(8):371-7.
- Singh A, Ahmad I, Akhter S, Jain GK, Iqbal Z, Talegaonkar S, et al. Nanocarrier based formulation of thymoquinone improves oral delivery: stability assessment, in vitro and in vivo studies. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2013;102:822-32.
- Kahila MMH, Najy AM, Rahaie M, Mir-Derikvand M. Effect of nanoparticle treatment on expression of a key gene involved in thymoquinone biosynthetic pathway in *Nigella sativa* L. *Nat Prod Res* 2017;27:1-5.
- Alkharfy KM, Ahmad A, Khan RM, Al-Shagha WM. Pharmacokinetic plasma behaviors of intravenous and oral bioavailability of thymoquinone in a rabbit model. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2015;40(3):319-23.
- Kaseb AO, Chinnakannu K, Chen D, Sivanandam A, Tejwani S, Menon M, et al. Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res* 2007;67(16):7782-8.
- Roepke M, Diestel A, Bajbouj K, Walluscheck D, Schonfeld P, Roessner A, et al. Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells. *Cancer Biol Ther* 2007;6(2):160-9.
- Gali-Muhtasib H, Kuester D, Mawrin C, Bajbouj K, Diestel A, Ocker M, et al. Thymoquinone triggers inactivation of the stress response pathway sensor CHEK1 and contributes to apoptosis in colorectal cancer cells. *Cancer Res* 2008;68(14):5609-18.
- Arafa el-SA, Zhu Q, Shah ZI, Wani G, Barakat BM, Racoma I, et al. Thymoquinone up-regulates PTEN expression and induces apoptosis in doxorubicin-resistant human breast cancer cells. *Mutat Res* 2010;706(1-2):28-35.
- Alhosin M, Ibrahim A, Boukhari A, Sharif T, Gies JP, Auger C, et al. Anti-neoplastic agent thymoquinone induces degradation of  $\alpha$  and  $\beta$  tubulin proteins in human cancer cells without affecting their level in normal human fibroblasts. *Invest New Drugs* 2012;30(5):1813-9.
- Arslan BA, Isik FB, Gur H, Ozen F, Catal T. Apoptotic effect of *Nigella sativa* on human lymphoma U937 cells. *Pharmacogn Mag* 2017;13(Suppl 3):628-32.
- Banerjee S, Kaseb AO, Wang Z, Kong D, Mohammad M, Padye S, et al. Antitumor activity of gemcitabine and oxaliplatin is augmented by thymoquinone in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2009;69(13):5575-83.

22. Li F, Rajendran P, Sethi G. Thymoquinone inhibits proliferation, induces apoptosis and chemosensitizes human multiple myeloma cells through suppression of signal transducer and activator of transcription 3 activation pathway. *Br J Pharmacol* 2010;161(3):541-54.
23. Hussain AR, Ahmed M, Ahmed S, Manogaran P, Plataniias LC, Alvi SN, et al. Thymoquinone suppresses growth and induces apoptosis via generation of reactive oxygen species in primary effusion lymphoma. *Free Radic Biol Med* 2011;50(8):978-87.
24. Pang J, Shen N, Yan F, Zhao N, Dou L, Wu LC, et al. Thymoquinone exerts potent growth-suppressive activity on leukemia through DNA hypermethylation reversal in leukemia cells. *Oncotarget* 2017;8(21):34453-67.
25. Majdalawieh AF, Fayyad MW, Nasrallah GK. Anti-cancer properties and mechanisms of action of thymoquinone, the major active ingredient of *Nigella sativa*. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2017;57(18):3911-28.
26. Zubair H, Khan HY, Sohail A, Azim S, Ullah MF, Ahmad A, et al. Redox cycling of endogenous copper by thymoquinone leads to ROS-mediated DNA breakage and consequent cell death: putative anticancer mechanism of antioxidants. *Cell Death Dis* 2013;4:e660.
27. El-Najjar N, Chatila M, Moukadem H, Vuorela H, Ocker M, Gandesiri M, et al. Reactive oxygen species mediate thymoquinone-induced apoptosis and activate ERK and JNK signaling. *Apoptosis* 2010;15(2):183-95.
28. Jafri SH, Glass J, Shi R, Zhang S, Prince M, Kleiner-Hancock H. Thymoquinone and cisplatin as a therapeutic combination in lung cancer: in vitro and in vivo. *J Exp Clin Cancer Res* 2010;29:87.
29. Lei X, Lv X, Liu M, Yang Z, Ji M, Guo X, et al. Thymoquinone inhibits growth and augments 5-fluorouracil-induced apoptosis in gastric cancer cells both in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2012;417(2):864-8.
30. Paramasivam A, Sambantham S, Shabnam J, Raghunandhakumar S, Anandan B, Rajiv R, et al. Anti-cancer effects of thymoquinone in mouse neuroblastoma (Neuro-2a) cells through caspase-3 activation with down-regulation of XIAP. *Toxicol Lett* 2012;213(2):151-9.
31. Dragoni S, Laforenza U, Bonetti E, Lodola F, Bottino C, Berra-Romani R, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates endothelial colony forming cells proliferation and tubulogenesis by inducing oscillations in intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration. *Stem Cells* 2011;29(11):1898-907.
32. Yi T, Cho SG, Yi Z, Pang X, Rodriguez M, Wang Y, et al. Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. *Mol Cancer Ther* 2008;7(7):1789-96.
33. Peng L, Liu A, Shen Y, Xu HZ, Yang SZ, Ying XZ, et al. Antitumor and anti-angiogenesis effects of thymoquinone on osteosarcoma through the NF- $\kappa$ B pathway. *Oncol Rep* 2013;29(2):571-8.
34. Kolli-Bouhafis K, Boukhari A, Abusnina A, Velot E, Gies JP, Lugnier C, et al. Thymoquinone reduces migration and invasion of human glioblastoma cells associated with FAK, MMP-2 and MMP-9 down-regulation. *Invest New Drugs* 2012;30(6):2121-31.
35. Ahmad I, Muneer KM, Tamimi IA, Chang ME, Ata MO, Yusuf N. Thymoquinone suppresses metastasis of melanoma cells by inhibition of NLRP3 inflammasome. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013;270(1):70-6.
36. El-Abhar HS, Abdallah DM, Saleh S. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. *J Ethnopharmacol* 2013;84(2-3):251-8.
37. Magdy MA, Hanan el-A, Nabila el-M. Thymoquinone: novel gastroprotective mechanisms. *Eur J Pharmacol* 2012;697(1-3):126-31.
38. Zafeer MF, Waseem M, Chaudhary S, Parvez S. Cadmium-induced hepatotoxicity and its abrogation by thymoquinone. *J Biochem Mol Toxicol* 2012;26(5):199-205.
39. Nagi MN, Mansour MA. Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: a possible mechanism of protection. *Pharmacol Res* 2000;41(3):283-9.
40. Rasheed Z, Altorbag AA, Al-Bossier AS, Al-nasser NA, Alkharraz OS, Altuwajiri KM, et al. Protective potential of thymoquinone against peroxynitrite induced modifications in histone H2A: in vitro studies. *Int J Biol Macromol* 2018;112:169-74.
41. Mahmoud MR, El-Abhar HS, Saleh S. The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice. *J Ethnopharmacol* 2002;79(1):1-11.
42. Yildiz F, Coban S, Terzi A, Ates M, Aksoy N, Cakir H, et al. *Nigella sativa* relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. *World J Gastroenterol* 2008;14(33):5204-9.
43. Awad AS, Kamel R, Sherief MA. Effect of thymoquinone on hepatorenal dysfunction and alteration of CYP3A1 and spermidine/spermine N-1-acetyl-transferase gene expression induced by renal ischaemia-reperfusion in rats. *J Pharm Pharmacol* 2011;63(8):1037-42.
44. Daba MH, Abdel-Rahman MS. Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett* 1998;95(1):23-9.
45. Khalife KH, Lupidi G. Nonenzymatic reduction of thymoquinone in physiological conditions. *Free Radic Res* 2007;41(2):153-61.
46. Farooqui Z, Shahid F, Khan AA, Khan F. Oral administration of *Nigella sativa* oil and thymoquinone attenuates long term cisplatin treatment induced toxicity and oxidative damage in rat kidney. *Biomed Pharmacother* 2017;96:912-23.
47. Jrah-Harzallah H, Ben-Hadj-Khalifa S, Almawi WY, Maaloul A, Houas Z, Mahjoub T. Effect of thymoquinone on 1,2-dimethyl-hydrazine-induced oxidative stress during initiation and promotion of colon carcinogenesis. *Eur J Cancer* 2013;49(5):1127-35.
48. Kanter M. *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. *Neurochem Res* 2008;33(3):579-88.
49. Ahlatci A, Kuzhan A, Taysi S, Demirtas OC, Alkis HE, Tarakcioglu M, et al. Radiation-modifying abilities of *Nigella sativa* and thymoquinone on radiation-induced nitrosative stress in the brain tissue. *Phytomedicine* 2014;21(5):740-4.
50. Khan MA, Ashfaq MK, Zuberi HS, Mahmood MS, Gilani AH. The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. *Phytother Res* 2013;17(2):183-6.
51. Chaieb K, Koudhi B, Jrah H, Mahdouani K, Bakhrouf A. Antibacterial activity of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. *BMC Complement Altern Med* 2011;11:29.
52. Hull Vance S, Benghuzzi H, Tucci M. Inhibition of bacterial attachment to kidney epithelial cells using thymoquinone-biomed 2010. *Bio-med Sci Instrum* 2010;46:69-74.
53. Rifaioğlu MM, Nacar A, Yuksel R, Yonden Z, Karcioğlu M, Zorba OU, et al. Antioxidative and anti-inflammatory effect of thymoquinone and its derivative in acute *Pseudomonas* prostatitis rat model. *Urol Int* 2013;91(4):474-81.
54. Piras A, Rosa A, Marongiu B, Porcedda S, Falconieri D, Dessi MA, et al. Chemical composition and in vitro bioactivity of the volatile and fixed oils of *Nigella sativa* L. extracted by supercritical carbon dioxide. *Ind Crops Prod* 2013;46:317-23.
55. Mahmoudvand H, Sepahvand A, Jahanbakhsh S, Ezatpour B, Ayatollahi Mousavi SA. Evaluation of antifungal activities of the essential oil and various extracts of *Nigella sativa* and its main component, thymoquinone against pathogenic dermatophyte strains. *J Mycol Med* 2014;24(4):e155-61.
56. Aboul-Ela EI. Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. *Mutat Res* 2002;516(1-2):11-7.

57. Amin B, Hosseinzadeh H. Black cummin (*Nigella sativa*) and its active constituent, thymoquinone: an overview on the analgesic and anti-inflammatory effects. *Planta Med* 2016;82(1-2):8-16.
58. Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology* 2000;143(3):219-26.
59. Usta A, Dede S. The effect of thymoquinone on nuclear factor kappa B levels and oxidative DNA damage on experimental diabetic rats. *Pharmacogn Mag* 2017;13(Suppl 3):S458-61.
60. El Gazzar M, El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC. Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *Int Immunopharmacol* 2006;6(7):1135-42.
61. El Gazzar M, El Mezayen R, Nicolls MR, Marecki JC, Dreskin SC. Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Biochim Biophys Acta* 2006;1760(7):1088-95.
62. Hayat K, Asim MB, Nawaz M, Li M, Zhang L, Sun N. Ameliorative effect of thymoquinone on ovalbumin-induced allergic conjunctivitis in Balb/c mice. *Curr Eye Res* 2011;36(7):591-8.
63. Sayed-Ahmed MM, Aleisa AM, Al-Rejaie SS, Al-Yahya AA, Al-Shabanah OA, Hafez MM, et al. Thymoquinone attenuates diethylnitrosamine induction of hepatic carcinogenesis through antioxidant signaling. *Oxid Med Cell Longev* 2010;3(4):254-61.
64. Racoma IO, Meisen WH, Wang QE, Kaur B, Wani AA. Thymoquinone inhibits autophagy and induces cathepsin-mediated, caspase-independent cell death in glioblastoma cells. *PLoS One* 2013;8(9):e72882.
65. Kou B, Liu W, Zhao W, Duan P, Yang Y, Yi Q, et al. Thymoquinone inhibits epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer cells by negatively regulating the TGF- $\beta$ /Smad2/3 signaling pathway. *Oncol Rep* 2017;38(6):3592-8.
66. Woo CC, Kumar AP, Sethi G, Tan KH. Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochem Pharmacol* 2012;83(4):443-51.
67. Bai T, Lian LH, Wu YL, Wan Y, Nan JX. Thymoquinone attenuates liver fibrosis via PI3K and TLR4 signaling pathways in activated hepatic stellate cells. *Int Immunopharmacol* 2013;15(2):275-81.
68. Bai T, Yang Y, Wu YL, Jiang S, Lee JJ, Lian LH, et al. Thymoquinone alleviates thioacetamide-induced hepatic fibrosis and inflammation by activating LKB1-AMPK signaling pathway in mice. *Int Immunopharmacol* 2014;19(2):351-7.
69. Mahgoub AA. Thymoquinone protects against experimental colitis in rats. *Toxicol Lett* 2003;143(2):133-43.
70. Fouad AA, Jresat I. Thymoquinone therapy abrogates toxic effect of cadmium on rat testes. *Andrologia* 2015;47(4):417-26.
71. Al-Naqeep G, Ismail M, Allaudin Z. Regulation of low-density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene expression by thymoquinone-rich fraction and thymoquinone in HepG2 cells. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2009;2(4-5):163-72.
72. Nader MA, el-Agamy DS, Suddek GM. Protective effects of propolis and thymoquinone on development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Arch Pharm Res* 2010;33(4):637-43.
73. Fararh KM, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Ghanem MM, Takewaki T. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. *Res Vet Sci* 2005;79(3):219-23.
74. Pari L, Sankaranarayanan C. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sci* 2009;85(23-26):830-4.
75. Abdelmeguid NE, Fakhoury R, Kamal SM, Al Wafai RJ. Effects of *Nigella sativa* and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic  $\beta$ -cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Diabetes* 2010;2(4):256-66.
76. Karandrea S, Yin H, Liang X, Slitt AL, Heart EA. Thymoquinone ameliorates diabetic phenotype in diet-induced obesity mice via activation of SIRT-1-dependent pathways. *PLoS One* 2017;12(9):e0185374.
77. Ebru U, Burak U, Yusuf S, Reyhan B, Arif K, Faruk TH, et al. Cardioprotective effects of *Nigella sativa* oil on cyclosporin A-induced cardiotoxicity in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008;103(6):574-80.
78. Nagi MN, Almakki HA. Thymoquinone supplementation induces quinone reductase and glutathione transferase in mice liver: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Phytother Res* 2009;23(9):1295-8.
79. Nagi MN, Almakki HA, Sayed-Ahmed MM, Al-Bekairi AM. Thymoquinone supplementation reverses acetaminophen-induced oxidative stress, nitric oxide production and energy decline in mice liver. *Food Chem Toxicol* 2010;48(8-9):2361-5.
80. Bouhlei A, Ben Mosbah I, Hadj Abdallah N, Ribault C, Viel R, Mannaï S, et al. Thymoquinone prevents endoplasmic reticulum stress and mitochondria-induced apoptosis in a rat model of partial hepatic warm ischemia reperfusion. *Biomed Pharmacother* 2017;94:964-73.
81. Asgharzadeh F, Bargi R, Beheshti F, Hosseini M, Farzadnia M, Khazaei M. Thymoquinone restores liver fibrosis and improves oxidative stress status in a lipopolysaccharide-induced inflammation model in rats. *Avicenna J Phytomed* 2017;7(6):502-10.
82. Sayed-Ahmed MM, Nagi MN. Thymoquinone supplementation prevents the development of gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007;34(5-6):399-405.
83. Basarslan F, Yilmaz N, Ates S, Ozgur T, Tutanc M, Motor VK, et al. Protective effects of thymoquinone on vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol* 2012;31(7):726-33.
84. Elsherbiny NM, El-Sherbiny M. Thymoquinone attenuates doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats: role of Nrf2 and NOX4. *Chem Biol Interact* 2014;223C:102-8.
85. Bargi R, Asgharzadeh F, Beheshti F, Hosseini M, Farzadnia M, Khazaei M. Thymoquinone protects the rat kidneys against renal fibrosis. *Res Pharm Sci* 2017;12(6):479-87.
86. Evirgen O, Gökçe A, Ozturk OH, Nacar E, Onlen Y, Ozer B, et al. Effect of thymoquinone on oxidative stress in *Escherichia coli*-induced pyelonephritis in rats. *Curr Ther Res Clin Exp* 2011;72(5):204-15.
87. Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Turkmen R, Sever E. Thymoquinone attenuates cypermethrin induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Pestic Biochem Physiol* 2012;104(3):229-35.
88. Alhebshi AH, Odawara A, Gotoh M, Suzuki I. Thymoquinone protects cultured hippocampal and human induced pluripotent stem cells-derived neurons against  $\alpha$ -synuclein-induced synapse damage. *Neurosci Lett* 2014;570:126-31.
89. Radad K, Moldzio R, Taha M, Rausch WD. Thymoquinone protects dopaminergic neurons against MPP+ and rotenone. *Phytother Res* 2009;23(5):696-700.
90. Radad K, Hassanein K, Al-Shraim M, Moldzio R, Rausch WD. Thymoquinone ameliorates lead-induced brain damage in Sprague Dawley rats. *Exp Toxicol Pathol* 2014;66(1):13-7.
91. Alhebshi AH, Gotoh M, Suzuki I. Thymoquinone protects cultured rat primary neurons against amyloid  $\beta$ -induced neurotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;433(4):362-7.
92. Abulfadl YS, El-Maraghy NN, Ahmed AE, Nofal S, Abdel-Mottaleb Y, Badary OA. Thymoquinone alleviates the experimentally induced Alzheimer's disease inflammation by modulation of TLRs signaling. *Hum Exp Toxicol* 2018;960327118755256.
93. Hosseinzadeh H, Parvardeh S. Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine* 2004;11(1):56-64.



94. Gilhotra N, Dhingra D. Thymoquinone produced antianxiety-like effects in mice through modulation of GABA and NO levels. *Pharmacol Rep* 2011;63(3):660-9.
95. Mabrouk A, Ben Cheikh H. Thymoquinone supplementation ameliorates lead-induced testis function impairment in adult rats. *Toxicol Ind Health* 2016;32(6):1114-21.
96. Isik AF, Kati I, Bayram I, Ozbek H. A new agent for treatment of acute respiratory distress syndrome: thymoquinone. An experimental study in a rat model. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005;28(2):301-5.
97. Kanter M. Thymoquinone attenuates lung injury induced by chronic toluene exposure in rats. *Toxicol Ind Health* 2011;27(5):387-95.
98. Suddek GM, Ashry NA, Gameil NM. Thymoquinone attenuates cyclophosphamide-induced pulmonary injury in rats. *Inflammopharmacology* 2013;21(6):427-35.
99. El-Khouly D, El-Bakly WM, Awad AS, El-Mesallamy HO, El-Demerdash E. Thymoquinone blocks lung injury and fibrosis by attenuating bleomycin-induced oxidative stress and activation of nuclear factor Kappa-B in rats. *Toxicology* 2012;302(2-3):106-13.
100. Ozdemir H, Kara MI, Erciyas K, Ozer H, Ay S. Preventive effects of thymoquinone in a rat periodontitis model: a morphometric and histopathological study. *J Periodontal Res* 2012;47(1):74-80.
101. Wirries A, Schubert AK, Zimmermann R, Jabari S, Ruchholtz S, El-Najjar N. Thymoquinone accelerates osteoblast differentiation and activates bone morphogenetic protein-2 and ERK pathway. *Int Immunopharmacol* 2013;15(2):381-6.
102. Vaillancourt F, Silva P, Shi Q, Fahmi H, Fernandes JC, Benderdour M. Elucidation of molecular mechanisms underlying the protective effects of thymoquinone against rheumatoid arthritis. *J Cell Biochem* 2011;112(1):107-17.
103. Khader M, Bresgen N, Eckl PM. In vitro toxicological properties of thymoquinone. *Food Chem Toxicol* 2009;47(1):129-33.
104. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res* 2003;17(4):299-305.
105. Abukhader MM. The effect of route of administration in thymoquinone toxicity in male and female rats. *Indian J Pharm Sci* 2012;74(3):195-200.
106. el Daly ES. Protective effect of cysteine and vitamin E, *Crocus sativus* and *Nigella sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in rats. *Biochemistry* 1996;9(4):105-18.
107. Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoui K, Amarouch H, Hassar M. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine* 2002;9(1):69-74.
108. Gali-Muhtasib H, Ocker M, Kuester D, Krueger S, El-Hajj Z, Diestel A, et al. Thymoquinone reduces mouse colon tumor cell invasion and inhibits tumor growth in murine colon cancer models. *J Cell Mol Med* 2008;12(1):330-42.
110. Mansour MA, Ginawi OT, El-Hadiyah T, El-Khatib AS, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA. Effects of volatile oil constituents of *Nigella sativa* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice: evidence for antioxidant effects of thymoquinone. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2001;110(3-4):239-51.
111. Salim EI, Fukushima S. Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds against rat colon carcinogenesis. *Nutr Cancer* 2003;45(2):195-202.
112. Al-Ali A, Alkhawajah AA, Randhawa MA, Shaikh NA. Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2008;20(2):25-7.
113. Tubesha Z, Imam MU, Mahmud R, Ismail M. Study on potential toxicity of a thymoquinone-rich fraction nanoemulsion in Sprague Dawley Rats. *Molecules* 2013;18(7):7460-72.
114. Islam SN, Begum P, Ahsan T, Huque S, Ahsan M. Immunosuppressive and cytotoxic properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res* 2004;18(5):395-8.
115. Steinmann A, Schätzle M, Agathos M, Breit R. Allergic contact dermatitis from black cumin (*Nigella sativa*) oil after topical use. *Contact Dermatitis* 1997;36(5):268-9.
116. Zedlitz S, Kaufmann R, Boehncke WH. Allergic contact dermatitis from black cumin (*Nigella sativa*) oil-containing ointment. *Contact Dermatitis* 2002;46(3):188.
117. AbuKhader MM, Khater SH, Al-Matubsi HY. Acute effects of thymoquinone on the pregnant rat and embryo-fetal development. *Drug Chem Toxicol* 2013;36(1):27-34.
118. Yi T, Cho SG, Yi Z, Pang X, Rodriguez M, Wang Y, et al. Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. *Mol Cancer Ther* 2008;7(7):1789-96.