

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABOU BEKR BELKAID –TLEMCEM–

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

Département de Biologie

Laboratoire :

Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie :

Synthèse et activités biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème :

**Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des
extraits préparés des feuilles et des graines d'*Ocimum basilicum***

Présenté par :

M^{elle} HASSI Wiem & Mr AZZI Oussama

Soutenu le 21-06-2023 devant les membres de jury :

Président	CHAUCHE Mohammed Tarik	MCA	Univ. Tlemcen
Encadrant	AZZI Rachid	Pr	Univ. Tlemcen
Co-encadrant	ABBOU Fayza	Docteur	Univ. Tlemcen
Examinatrice	BELAID-MEDJDOUB Houria	MCB	Univ. Tlemcen

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

*Tous d'abord nous tenons à remercier le bon **Allah** tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.*

*Nous exprimons nos profondes gratitude et respectueuses reconnaissances à notre encadrant Monsieur à Mr. **AZZI Rachid**, Professeur au département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bakr Belkaid - Tlemcen pour son encadrement, conseils et sacrifices afin de donner le meilleur et pour son suivi durant la période de préparation de notre mémoire d'afin d'étude.*

*Nous exprimons également nos sincères remerciements vont également à **M^{elle} ABBOU Fayza**, docteur en biochimie pour son soutien et son aide pour la réalisation de la pratique de ce travail.*

*Nous exprimons également mes remerciements à **Mr CHAUCHE Mohammed Tarik**, Maître de conférences classe A au département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury ainsi que pour sa sympathie.*

*Nous adressons nous sincères remerciements à **Mme BELAID-MEDJDOUB Houria**, maitre de conférences classe B, au Département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nous adressons nos sincère remerciements à tous les professeurs qui par leurs conseils et leurs efforts durant tous les années passées nous sommes là, vraiment un grand remerciement pour leurs qualités d'enseignement qui nous a été dispensé.



Dédicace

En témoignage d'amour et d'affection, je dédie ce modeste travail avec une grande fierté à tous ceux qui me sont chers :

Ma très chère mère **BOUHEFS Houria, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

** Mon très cher père **Hassi Mohammed**, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

**Que Allah vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je suis puisse vous combler de bonheur.*

Mes chère frères **Alaeddine, Mostapha et ma belle-sœur **Ibtissem** puisse Allah vous donne santé, bonheur et réussite.*

A tous ce qui ont enseigné moi au long de ma vie scolaire. Pour tout leur amour, leur soutien, leur encouragement, leur assistance et leur présence dans ma vie.

A toute mes chères ami (e)s : Oussama, Chahinez, Hanane, Chaimae

Merci de votre présence, soutien et de m'avoir encouragée à aller plus loin.

A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.

A toute ma famille HASSI et BOUHAFES.

HASSI Wiem



Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes chères parents ma mère et mon père pour leur amour, leur tendresse, et pour leur soutien durant toutes les étapes de ma vie. J'espère qu'un jour, je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que Dieu leur prête tout le bonheur.

*A mon chère frère **Omar** et ma belle-sœur **Douaa** pour leur patience, leur soutien et leurs encouragements.*

A tous ce qui ont enseigné moi au long de ma vie scolaire. Pour tout leur amour, leur soutien, leur encouragement, leur assistance et leur présence dans ma vie.

A toute ma famille.

A mes amies et mes camarades et toutes les personnes que j'aime.

Merci de votre présence, soutien et de m'avoir encouragée à aller plus loin.

AZZI Oussama

المخلص

تمثل دراسة المستقلبات الثانوية مثل الزيوت والمركبات الفينولية للنباتات الطبية موضوعًا ذا أهمية علمية بفضل أنشطتها البيولوجية.

اهتمنا في هذا العمل يتمثل في تثمين نبات الريحان (*Ocimum basilicum* L) من عائلة الليماسية الذي تم جمعه من منطقة عين يوسف - تلمسان ، حيث يركز هدفنا على دراسة كيميائية نباتية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لأربع مستخلصات الميثانول المائية الخام ، المحضرة بواسطة الغلي أو النقع ، وأجزاء أسيتات الإيثيل ، من أوراق وبذور هذا النبات.

أظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية التي أجريت على مستخلصات الريحان الخام وجود مستقلبات ثانوية مختلفة مثل الصابونين والقلويدات والعصص والفلافونويد والمركبات المختزلة. تم تسجيل مردود زيت البذور بنسبة 20.41%.

أظهر المستخلص الخام المحضر بنقع الأوراق أعلى مستوى إجمالي من مادة البوليفينول بحوالي 290.74 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميليغرام مستخلص حيث سجل جزء أسيتات الإيثيل من هذا المستخلص نسبة عالية من الفلافونويد بحوالي 278.16 ميكروغرام مكافئ كاتشين لكل ميليغرام مستخلص.

أظهرت نتائج اختبارات تثبيط الجذر الحر DPPH و قدرة اختزال للحديد (FRAP) أن جزء أسيتات الإيثيل المستخرج من المستخلص الخام المحضر بمغلي الأوراق أظهر نشاطًا مضادًا للأكسدة أقوى ، مقارنة بالمستخلصات الأخرى التي تمت دراستها ، مع قيمة IC 50 تبلغ 0.27 مجم / مل وقيمة EC50 تبلغ 0.33 مجم / مل على التوالي. يظل هذا النشاط منخفضًا مقارنةً بحمض الأسكوربيك.

في الختام ، يعتبر نبات الريحان غنيًا جدًا بالجزئيات النشطة بيولوجيًا والتي تتمتع بخصائص مضادة للأكسدة ، والتي يمكن أن تشكل مصدرًا واعدًا في مجالات الأدوية ومستحضرات التجميل والأغذية الزراعية.

الكلمات المفتاحية: الريحان ، الزيوت ، المركبات الفينولية ، النشاط المضاد للأكسدة ، FRAP ، DPPH.

Résumé

L'étude des métabolites secondaires tels que les huiles et les composés phénoliques des plantes médicinales présentent un sujet d'intérêt scientifique grâce à leurs activités biologiques.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la valorisation de la plante basilic (*Ocimum basilicum* L.), de la famille des Lamiacées, récoltée dans la région de Ain Youcef -Tlemcen. Notre objectif est porté sur une étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante quatre extraits bruts hydro-méthanoliques, préparés par décoction et macération, et leurs fractions acétate d'éthyle, des feuilles et des graines de cette plante.

Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits bruts de basilic ont révélé la présence des différents métabolites secondaires tels que les saponines, alcaloïdes, tanins, flavonoïdes et composés réducteurs. Un rendement d'huile des graines, estimé à 20,41%, a été enregistré.

L'extrait brut préparé par macération des feuilles a présenté la teneur en polyphénols totaux la plus élevées de l'ordre de 290,74 μg Eq AG/ mg ES. Alors que, la fraction acétate d'éthyle de cet extrait a enregistré une teneur élevée en flavonoïdes de l'ordre de 278,16 μg Eq C/ mg ES.

Les résultats des tests du piégeage du radical libre DPPH et du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), ont montré que la fraction d'acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par décoction des feuilles a présenté l'activité antioxydante la plus forte, par rapport aux autres extraits étudiés, avec une valeur de CI_{50} de 0,27 mg/ml et une valeur de EC_{50} de 0,33 mg/ml, respectivement. Cette activité reste faible par rapport à celle de l'acide ascorbique

En conclusion, *Ocimum basilicum* est une plante très riche en molécules bioactives douées de propriété antioxydante, qui pourraient constituer une source prometteuse dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires.

Mots clés : *Ocimum basilicum*, huiles, composés phénoliques, Activité antioxydante, DPPH, FRAP.

Abstract

The study of secondary metabolites such as oils, phenolic compounds of medicinal plants present a subject of scientific interest thanks to their biological activities.

In this work, we were interested in the valorization of the basil plant (*Ocimum basilicum* L.), of the Lamiaceae family, harvested in the region of Ain Youcef -Tlemcen. Our objective is focused on a phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of four crude hydro-methanolic extracts, prepared by decoction and maceration, and their ethyl acetate fractions, from the leaves and seeds of this plant.

The phytochemical tests carried out on the raw basil extracts revealed the presence of various secondary metabolites such as saponins, alkaloids, tannins, flavonoids and reducing compounds. A seed oil yield, estimated at 20.41%, was recorded.

The crude extract prepared by maceration of the leaves presented the highest total polyphenol content of around 290.74 $\mu\text{g GA Eq /mg DW}$. Whereas, the ethyl acetate fraction of this extract recorded a high flavonoid content of around 278.16 $\mu\text{g C Eq /mg DW}$.

The results of the DPPH free radical scavenging and iron reducing power (FRAP) tests showed that the fraction of ethyl acetate recovered from the crude extract prepared by decoction of the leaves showed the most antioxidant activity. strong, compared to the other extracts studied, with an IC50 value of 0.27 mg/ml and an EC50 value of 0.33 mg/ml, respectively. This activity remains low compared to that of ascorbic acid

In conclusion, *Ocimum basilicum* is a plant very rich in bioactive molecules endowed with antioxidant property, which could constitute a promising source in the pharmaceutical, cosmetic and agri-food fields.

Key words: *Ocimum basilicum*, oils, phenolic compounds, antioxidant activity, DPPH, FRAP.

Table des matières

<i>Introduction</i>	<i>1</i>
<i>Partie 1 Synthèse bibliographique</i>	<i>4</i>
<i>1 Historique et l'origine</i>	<i>6</i>
<i>2 Description botanique</i>	<i>7</i>
<i>3 Systématique</i>	<i>8</i>
<i>4 Noms vernaculaires</i>	<i>9</i>
<i>5 Répartition géographique</i>	<i>9</i>
<i>6 Composition chimique</i>	<i>10</i>
6.1 Macronutriments	10
6.2 Minéraux et oligo-éléments	11
6.3 Les composés antioxydants les plus importants du basilic	12
6.4 Les principaux acides gras des espèces de basilic	12
<i>7 La composition des huiles de plante</i>	<i>12</i>
<i>8 Domaines d'applications</i>	<i>13</i>
8.1 Cuisine	14
8.2 Médecine traditionnelle	14
8.3 Cosmétique	14
8.4 Agriculture	14
8.5 Autres :	15
<i>9 Toxicité des huiles de plante</i>	<i>15</i>
<i>10 Propriétés biologiques</i>	<i>15</i>
<i>1 Stress oxydant</i>	<i>18</i>
1.1 Définition	18
1.2 Les radicaux libres	18

1.3	Conséquence de stress oxydant	20
1.4	Les cibles biologiques de ERO.....	20
1.4.1	Les lipides membranaires.....	21
1.4.2	Les protéines	21
1.4.3	L'ADN	22
1.4.4	Les lipoprotéines	22
1.5	Les défenses antioxydants	22
1.5.1	Les antioxydants enzymatiques.....	23
1.5.2	Les antioxydants non enzymatiques.....	24
<i>Partie 2 : Étude expérimentale</i>		27
<i>Matériel et méthodes</i>		28
<i>1 Matériel végétal :.....</i>		29
1.1	Collecte de la plante	30
1.2	Séchage, broyage et Conservation.....	30
<i>2 Extraction du matériel végétal.....</i>		31
2.1	Extraction des huiles à partir des graines par Soxhlet.....	31
2.2	Calcul du rendement d'huile des graines.....	31
2.3	Préparation des extraits bruts eau-méthanol des feuilles et des graines d' <i>O. Basilicum</i>	32
2.3.1	Extrait brut préparé par macération.....	32
2.3.2	Extrait brut préparé par décoction.....	32
2.3.3	Préparation des fractions acétate d'éthyle des feuilles et des graines d' <i>O. Basilicum</i>	32
2.4	Calcul des rendements	33
<i>3 Les tests phytochimiques.....</i>		35
3.1	Composés azotés (les alcaloïdes)	36
3.2	Les composés phénoliques	36
3.3	Les composés terpéniques	36
3.4	Les composés réducteurs	37
<i>4 Dosage des composés phénoliques</i>		37
4.1	Dosage des polyphénols totaux	37

➤ Le principe	37
➤ Le protocole	37
5 Dosage des flavonoïdes	38
➤ Le principe	38
➤ Le protocole	38
6 L'évaluation de l'activité antioxydant.....	39
6.1 Test du piégeage du radical libre DPPH :.....	39
6.2 Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power).....	40
7 Analyse statistique.....	42
Résultats et discussions	43
1. Caractéristique d'huile et des extraits préparés.....	44
1.1. Rendement et caractéristique d'huile	44
1.2. Rendements et caractéristiques des extraits préparés	44
2. Tests phytochimiques	46
3. Le dosage des composés phénoliques.....	47
3.1. Dosage des phénols totaux	47
3.2. Dosage des flavonoïdes	48
4. Évaluation de l'activité antioxydant.....	51
Conclusion et perspectives	63
Références bibliographiques.....	66

Liste des Abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
DPPH	Radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma
ERO	Espèce réactif d'oxygène
SOD	Superoxyde dismutase
H	L'huile
M	masse
OH°	Hydroxyle
UV	ultra-violet
V	volume
VNR	Valeurs Nutritionnelles de Référence
FAEDf	Fraction d'acétate d'éthyle de décoction des feuilles
FAEMf	Fraction d'acétate d'éthyle de macération des feuilles
EBDF	extrait brut de décoction des feuilles
EBMF	extrait brut de macération des feuilles
EBDG	extrait brut de décoction des graines
EBMG	extrait brut de macération des graines

Liste des figures

Figure 1: Basilic commun, basilic doux.....	6
Figure 2 : Photos illustrant de parties d' <i>Ocimum basilicum</i> . L	8
Figure 3: Répartition géographique d' <i>Ocimum basilicum</i> . L	10
Figure 4: Les sites d'action des radicaux libres dans la cellule	22
Figure 5: Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production.....	23
Figure 6: La partie aérienne d' <i>Ocimum basilicum</i> L. récoltée dans la région de Ain Youcef wilaya de Tlemcen.	29
Figure 7: Carte géographique de la région d'Ain Youcef la wilaya de Tlemcen, site de récolte d' <i>Ocimum basilicum</i> L.	30
Figure 8: Extraction des huiles à partir des graines par Soxhlet.	31
Figure 9: Organigramme sur les différentes méthodes de préparation d'huile et des extraits des graines et des feuilles d' <i>Ocimum basilicum</i> L.....	34
Figure 10: Organigramme 2 expliquant les étapes d'extraction.	35
Figure 11: Réduction du radical DPPH.....	39
Figure 12: Réduction du radical FRAP	41
Figure 13: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour dosage des polyphénols.....	47
Figure 14: La courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes	49
Figure 15: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.....	51
Figure 16: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de la fraction acétate d'éthyle préparée par décoction des feuilles d' <i>O. basilicum</i>	52
Figure 17: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de la fraction acétate d'éthyle préparée par macération des feuilles d' <i>O. basilicum</i>	52

Figure 18: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par macération des feuilles d'O. basilicum.	53
Figure 19: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par décoction des feuilles d'O. basilicum.	53
Figure 20: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par macération des graines d'O. basilicum.	54
Figure 21: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par décoction des graines d'O. basilicum	54
Figure 22: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.	56
Figure 23: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de la fraction acétate d'éthyle préparée par décoction des feuilles d'O. basilicum.	57
Figure 24: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de la fraction acétate d'éthyle préparée par macération des feuilles d'O. basilicum.	57
Figure 25: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par décoction des feuilles d'O. basilicum.....	58
Figure 26: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par macération des feuilles d'O. basilicum.....	58
Figure 27: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par décoction des graines d'O. basilicum.	59
Figure 28: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par macération des graines d'O. basilicum.....	59
Figure 29: La comparaison entre les valeurs obtenues de CI50 (DPPH) et EC50 (FRAP) des extraits préparés des feuilles et des graines d'O. basilicum.....	61

Liste des tableaux

Tableau 1: Le tableau 1 représente la classification botanique d’Ocimum basilicum L.	8
Tableau 2: Les noms et les synonymes d’Ocimum basilicum L	9
Tableau 3: La composition de basilic de macronutriments	10
Tableau 4: La composition de basilic de Vitamines	11
Tableau 5: La composition de basilic de minéraux et oligo-éléments.....	11
Tableau 6: Pourcentages d’huiles dans différentes parties de la plante d’Ocimum basilicum L. croissant dans la région de Shendi-Sudan (2014).	12
Tableau 7: Composition chimique de l’HE d’Ocimum basilicum L	13
Tableau 8: Liste des maladies reliées au stress oxydatif.....	20
Tableau 9: La situation géographique et stade bioclimatique de la zone de collecte	30
Tableau 10: Rendements et caractéristiques des différents extraits préparés des feuilles et des graines d’O. basilicum.....	44
Tableau 11: Comparaison des rendements des autres différents extraits préparés des feuilles et d’O. basilicum.	45
Tableau 12: Résultats des tests phytochimiques des différents extraits préparés des feuilles et des graines d’O. basilicum.....	46
Tableau 13: Les teneurs en polyphénols totaux des extraits préparés d’Ocimum basilicum	48
Tableau 14: Les teneurs en flavonoïdes des extraits préparés d’Ocimum basilicum	49
Tableau 15: Travaux réalisés sur les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes, des extraits d’O. basilicum, récoltés dans différentes régions du monde (Shackelford et al.,2009).....	50
Tableau 16: Les valeurs des CI50 de l’acide ascorbique et les différents extraits préparés d’Ocimum basilicum.	55
Tableau 17: Comparaison des CI50 de différents extraits préparés d’O. basilicum avec quelques travaux.....	55
Tableau 18: les valeurs des EC50 de l’acide ascorbique et les différents extraits préparés.	60
Tableau 19: Valeurs d’EC50 de quelques travaux publiés sur le test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP) des différents extraits préparés de O. basilicum	60

Introduction



Depuis l'Antiquité, l'homme a utilisé les plantes dans les besoins de sa vie quotidienne, y compris les plantes médicinales aromatiques.

Les plantes aromatiques médicinales (PAM) font partie intégrante des systèmes de médecine traditionnelle reconnus dans de nombreuses communautés locales dans le monde entier, et comprennent une large gamme d'espèces. Depuis des temps immémoriaux ces produits ont apporté une contribution importante à la santé et le bien-être humains ainsi que la contribution au revenu des ménages agricoles.

La médecine traditionnelle est définie par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en tant que la somme totale des connaissances, des compétences et pratiques fondées sur les théories, les croyances, et des expériences indigènes à différents cultures, utilisées dans l'entretien de la santé ainsi que dans la prévention, le diagnostic, l'amélioration ou le traitement de maladie physique et mentale (**Marshall, 2011**).

Ces plantes sont souvent utilisées comme ingrédients dans la cuisine pour ajouter de la saveur et de l'arôme aux plats. En plus de leurs utilisations culinaires, les PAM sont également utilisées dans la préparation de tisanes, d'huiles essentielles, de lotions, de crèmes et d'autres produits de santé.

Ocimum basilicum L., également connu sous le nom de basilic, est une plante herbacée, aromatique et alimentaire. Elle est utilisée sous forme fraîche ou bien transformée dans certaines préparations culinaires, ainsi que dans la médecine traditionnelle. Les différentes parties de cette plante présentent des propriétés biologiques très importantes pour la santé humaine grâce à leur richesse en composés bioactifs (**Bensaid, 2022**).

Le stress oxydatif est un processus qui se produit dans le corps lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité du système à neutraliser ces substances nocives. Les radicaux libres sont des molécules instables et réactives qui peuvent endommager les cellules, les protéines, les lipides et l'ADN (**Halliwell, 2015**).

Il peut être causé par divers facteurs tels que le stress, la pollution, l'exposition aux rayonnements, une mauvaise alimentation, le tabagisme et certaines maladies. Il a été associé à de nombreuses maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, les maladies neurodégénératives et le vieillissement prématuré (**Valko et al., 2006**).

Les antioxydants sont des substances qui aident à neutraliser les radicaux libres et à réduire les dommages causés par le stress oxydatif. Ils agissent en donnant un électron à un radical libre, ce qui stabilise la molécule et l'empêche de causer des dommages aux cellules saines (**Lobo et al.,**

2010). Certains exemples d'antioxydants couramment trouvés dans l'alimentation comprennent les vitamines C et E, le bêta-carotène, le sélénium et le zinc. Ces antioxydants peuvent être trouvés dans divers aliments tels que les fruits et légumes colorés, les noix, les graines, les légumineuses et les céréales complètes (**Shahidi et Zhong, 2015**).

Cette étude a été menée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits préparés à partir des feuilles et des graines de *Ocimum basilicum. L.*

Notre mémoire comprend trois parties :

Nous présenterons, dans une première partie, des généralités sur *O. Basilicum*, les huiles et un rappel sur le stress oxydatif et les antioxydants.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons procédé à :

- La préparation des extraits et à la détermination du rendement en huiles ;
- Tests phytochimiques sur les extraits préparés ;
- Dosages des composés phénoliques ;
- L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et la réduction de fer FRAP ;

La troisième partie du mémoire sera consacrée à la présentation de l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent.

Cette étude sur terminée par une conclusion et des perspectives de recherche à venir.

Partie 1

Synthèse

bibliographique



Chapitre I

Plante étudiée :
l'Ocimum basilicum



Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) connaissent un développement important au niveau national et international. Les produits qui en dérivent sont utilisés dans plusieurs domaines comme l'industrie pharmaceutique, l'agroalimentaire, la cosmétique et autres types d'industries (El Babili et Bouajila, 2019).

Le basilic (*Ocimum basilicum. L*), de la famille des Lamiacées, est l'une des herbes les plus cultivées au monde. En raison de sa popularité mondiale, le basilic est connu comme le roi des herbes en raison de son goût aromatique et agréable (Gupta et Abu-Ghannam,2011).



Figure 1: La partie aérienne d'*Ocimum basilicum L.*

1 Historique et l'origine

Le basilic a une longue histoire de légendes et d'utilisations dans le monde entier. Il est également connu comme sacré en Inde car il est utilisé pour stériliser les maisons contaminées par le paludisme, tuant ainsi les moustiques (Rajamanickam et al., 2017), et pour protéger les membres de la famille des mauvais esprits (Grieve, 1971).

Originaire d'Afrique centrale et d'Asie du Sud, le basilic était vénéré des anciens Grecs qui le réservaient aux souverains. Le terme basilic viendrait ainsi du mot grec basilikon qui signifie royal (Diane, 2018).

Une autre origine est répertoriée du nom lié à un serpent venimeux nommé basilisk. Discorde rapportait qu'en Afrique on frottait du basilic sur les morsures de serpent comme contre-poison. En Inde, il était utilisé dans les onguents destinés à la famille royale (**Diane, 2018**).

Dès le XIIe siècle, les Romains l'incorporaient généreusement dans leurs préparations culinaires pour prévenir les flatulences ainsi que pour augmenter la qualité et la quantité du lait des nourrices. (**Diane, 2018**).

2 Description botanique

Le basilic (*Ocimum basilicum. L*) est une plante aromatique et herbacée annuelle de la famille des Lamiacées. Elle peut atteindre 50 à 100 cm de hauteur (**Lethicia, et al., 2022**). Les parties les plus utiles du basilic sont les feuilles et les graines (**Arabici et Bayram, 2004**).

- **Les feuilles :** Le basilic produit de grandes feuilles vertes à l'aspect brillant d'environ de 5 centimètres de longueur tout au long de l'été (**Muensch et Rice, 1978**).
- **Les fleurs :** Les fleurs du basilic sont généralement enlevées pour augmenter le rendement des feuilles (**Duke, 1985**), de couleur blanches ou rosées, formant des glomérules lâches au sommet de la tige (**Belkamelet al., 2008**).
- **Les Tiges :** sont quadrangulaires ou pubescentes, de couleur vert pâle, pouvant atteindre jusqu'à 1 m de haut et sont fortement ramifiées (**Costa et al., 2014**).
- **Les graines :** sont petites, oblongues et marron foncé (**Magness et Markle, 1971**).
- **La chlorophylle :** est responsable de la couleur verte du basilic et renferme d'autres pigments tels que des **caroténoïdes** et des **flavones** (**Torre, 2016**).



Figure 2 : Photos illustrant de parties d'*Ocimum basilicum*. L (www.tela-botanica.org)

3 Systématique

Tableau 1: Le tableau 1 représente la classification botanique d'*Ocimum basilicum* L. (Chenni, 2016).

Règne	Végétale
Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Ocimum</i>
Espèce	<i>O. basilicum</i> L

4 Noms vernaculaires

Ocimum basilicum a pour nom commun le basilic. Le mot basilic, vient du grec basilikon qui signifie plante royale (Belkamel et al., 2008).

O. basilicum est connu sous différents noms dans différentes langues à travers le monde (Tableau 2) (Ali et al., 2012).

Tableau 2: Les noms et les synonymes d'*Ocimum basilicum* L (Ali et al., 2012)

Différentes langues	Noms
En anglais	Basil, Common Basil ou Sweet Basil
En arabe	Badrooj, Hebak ou Rihan
En français	Le Basilic

5 Répartition géographique

Le genre *Ocimum* (Lamiaceae) comprend environ 50 à 150 espèces avec un grand nombre de variétés (Gabbo et Lopes., 2007).

Les *Ocimum* sont des plantes annuelles ou vivaces, souvent aromatiques, originaires des régions tropicales et tempérées chaudes telles que l'Inde, l'Afrique et l'Asie australe, et appartenant à la famille des Lamiacées. Elles sont cultivées dans diverses conditions écologiques à travers le monde. Bien qu'elles poussent à l'état sauvage dans les régions tropicales et subtropicales telles que l'Afrique centrale et le sud-est d'Asie, elles sont également commercialisées dans de nombreux pays tels que l'Algérie, le Maroc, la France, la Hongrie, la Grèce, l'Égypte, l'Indonésie, ainsi que dans plusieurs États américains. (Belkamel et al., 2008). Comme la montre dans la Figure 3 :



Figure 3: Répartition géographique d'*Ocimum basilicum*. L (Bouziane et Khenfer, 2022)

6 Composition chimique

La feuille de basilic est une source importante de polyphénols dont les principaux sont la rutine, l'isoquercétine, la quercétinine, l'acide-coumarique (Vlase, 2014).

Pour chaque nutriment, les tableaux apportent une information sur la teneur, les valeurs minimales et maximales pour 100 g net de basilic frais, alors que le pourcentage des Valeurs Nutritionnelles de Référence (VNR) sont calculés pour 5 g. (Aprifel, 2019).

6.1 Macronutriments

Tableau 3: La composition de basilic de macronutriments (Aprifel, 2019)

Constituant (g)	Teneur moyenne pour 100 g	Min-Max pour 100 g	Teneur moyenne pour 5g	%VNR *
Eau	91.70	90,50 - 93,20	4.59	-
Fibres	3.47	1,40 - 4,50	0.17	-
Glucides	2.55	2,50 - 2,60	0.13	0.05
dont Sucres	0.37	0,30 - 0,40	0.02	0.02
Lipides	0.47	0,30 - 0,67	0.02	0.03
dont Acides Gras Saturés	0.13	0,041 - 0,60	0.01	0.03
Protéines	3.35	2,30 - 3,76	0.17	0.34

a. Vitamines

Tableau 4: La composition de basilic de Vitamines (Aprifel, 2019)

Constituant	Teneur moyenne pour 100 g	Min-Max pour 100 g	Teneur moyenne pour 5g	%VNR *
Provitamine A (µg)	3 140	350 - 4820	157	-
Vitamine A (µg)	523,33	58,33 - 803,33	26.17	3.27
Vitamine B1 (mg)	0,034	0,008 - 0,045	0	0.15
Vitamine B2 (mg)	0,076	0,047 - 0,099	0	0.27
Vitamine B3 (mg)	0,90	0,79 - 1,06	0.05	0.28
Vitamine B5 (mg)	0,21	0,18 - 0,29	0.01	0.18
Vitamine B6 (mg)	0,16	0,13 - 0,18	0.01	0.57
Vitamine B9 (µg)	68	57 - 73	3.40	1.70
Vitamine C (mg)	14,50	11 - 18	0.73	0.91
Vitamine E (mg)	0,80	-	0.04	0.33
Vitamine K1 (µg)	415	-	20.75	27.67

6.2 Minéraux et oligo-éléments

Tableau 5: La composition de basilic de minéraux et oligo-éléments (Aprifel, 2019)

Constituant	Teneur moyenne pour 100 g	Min-Max pour 100 g	Teneur moyenne pour 5g	%VNR *
Calcium (mg)	273	143 – 369	13.65	1.71
Chlorure (mg)	-	-	-	-
Cuivre (mg)	0.39	0.20 - 0.48	0.02	1.95
Fer (mg)	5.24	3.17 - 7.30	0.26	1.87
Iode (µg)	-	-	-	-
Magnésium (mg)	64	47 – 82	3.20	0.85
Manganèse (mg)	1.15	0.85 - 1.58	0.06	2.88
Phosphore (mg)	56	43 – 72	2.80	0.40
Potassium (mg)	295	128 – 565	14.75	0.74
Sélénium (µg)	-	-	-	-
Sodium (mg)	12	3 – 20	0.60	-
Zinc (mg)	0.81	0.53 – 1.17	0.04	0.41

6.3 Les composés antioxydants les plus importants du basilic

Le basilic est une plante aromatique qui contient plusieurs composés antioxydants importants. Nous pouvons citer : l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide rosmarinique, la quercétine, la rutine, l'apigénine, le chlorogène, le p-hydroxybenzoïque (Castronuovo et al., 2019).

6.4 Les principaux acides gras des espèces de basilic

Le basilic contient divers acides gras, mais les principaux acides gras présents dans les espèces de notre plante comprennent généralement les suivants : l'acide stéarique, l'acide oléique, l'acide palmitique, l'acide linoléique, l'acide myristique, l'acide α -linoléique, l'acide caprique, l'acide laurique et l'acide arachidonique (Teofilovic et al., 2017).

7 La composition des huiles de plante

Le tableau 6 indique la teneur en huile de la fleur, de la feuille, de la tige et de la graine. La valeur la plus élevée de la teneur en huile a été obtenue à partir de la fleur (5,75 %), suivie de la partie feuille (3,03 %), puis la partie tige (0,21 %) et la plus faible était celle des graines (0,022) (Tableau 6) (Abdullah et al., 2020).

Tableau 7: Pourcentages d'huiles dans différentes parties de la plante d'*Ocimum basilicum* L. croissant dans la région de Shendi-Sudan (2014) (Abdullah et al., 2020).

Partie de la plante	Fleurs	Graines	Tiges	Feuilles
Pourcentages d'huiles (%)	5,75	0,02	0,21	3,03

Le tableau 7 regroupe l'ensemble des constituants identifiés dans l'huile d'*Ocimum basilicum*, représentant 99,58% de la totalité de sa composition. La fraction des hydrocarbures monoterpéniques est de 2,74%, alors que la fraction oxygénée constitue 89,14%. La partie sesquiterpénique est moins abondante et contribue par 7,7% dans la composition. Le linalol et l'estragole ont une teneur qui dépasse 70% de l'huile essentielle (Greche et al., 2007).

Tableau 8: Composition chimique de l'huile d'*Ocimum basilicum* L (Greche et al, 2007)

COMPOSITION	%
α -pinène	0,29
β -pinène	0,82
Myrcène	0,51
1,8 cinéole	6,77
Trans ocimène	0,80
γ -terpinène	0,16
α -terpinolène	0,16
Linalol	33,12
Camphre	0,42
4-terpinéol	0,56
α -terpinéol	0,73
Estragole	38,28
Chavicol	0,68
Acétate de bornyle	0,27
Eugénol	8,31
β -élémyène	0,38
Trans alpha -bergamotène	1,29
α -humulène	0,29
Epi- bicyclosesquiphellandrene	0,23
Germacrène D	1,24
Valencène	0,61
γ -cadinène	0,82
Cubénol	0,35
β -cadinène	2,49

8 Domaines d'applications

L'*Ocimum basilicum*, également connu sous le nom de basilic, est une plante aromatique utilisée dans la cuisine, la médecine traditionnelle et la cosmétique. Voici quelques domaines d'application de cette plante (Kothari et al.,2010).

8.1 Cuisine

- Le basilic est couramment utilisé comme herbe aromatique en cuisine pour parfumer les plats, en particulier dans la cuisine italienne et méditerranéenne. Il peut être utilisé frais ou séché, en feuilles ou haché (**Singh et al. 2017**).
- Les graines peuvent également être utilisées comme épice dans les plats cuisinés (**Bora et Sharma, 2011**).
- Elles ont un goût plus fort et plus amer que les feuilles de basilic, donc elles doivent être utilisées avec modération (**Bora et Sharma, 2011**).
- Les graines de basilic peuvent être utilisées pour assaisonner une variété de plats. Par exemple, elles peuvent être saupoudrées sur des plats de viande, de poisson ou de légumes pour ajouter une saveur unique. Elles peuvent également être ajoutées aux marinades pour améliorer la saveur et l'arôme, ou utilisées pour parfumer des sauces et des vinaigrettes. (**Bora et Sharma, 2011**).

8.2 Médecine traditionnelle

- Le basilic est utilisé dans la médecine traditionnelle pour traiter une variété de troubles, notamment les troubles digestifs, les douleurs menstruelles et les infections respiratoires. Il est également considéré comme un tonique général pour améliorer la santé globale (**Patil et al. 2012**).
- L'huile de cette plante est utile pour les crampes, la fatigue mentale due à la rhinite, le rhume et comme traitement de premiers soins pour les piqûres de guêpes et les morsures de serpent (**Baytop, 1984**).

8.3 Cosmétique

- L'huile essentielle de basilic est utilisée dans les cosmétiques pour ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. Il est également utilisé dans les produits de soin de la peau pour ses propriétés apaisantes et hydratantes (**Fathima et al. 2015**).

8.4 Agriculture

- Le basilic est cultivé commercialement comme plante aromatique pour la cuisine, mais il est également utilisé comme plante répulsive pour éloigner les insectes nuisibles dans les jardins et les cultures (**El-Wakeel et al., 2018**).

8.5 Autres :

- Les huiles essentielles de basilic sont également utilisées comme conservateurs naturels dans les aliments, car elles ont des propriétés antimicrobiennes et antioxydants. (Mishra et Dubey, 2020).
- Les huiles essentielles de basilic peuvent être utilisées comme répulsif pour les insectes, en particulier les moustiques. Les huiles essentielles de basilic contiennent des composés tels que le linalol et l'eugénol qui ont des propriétés répulsives pour les insectes (Giatropoulos et al., 2020).

9 Toxicité des huiles de plante

- L'huile de basilic tropical doit être prise en interne avec prudence en raison de certains dérivés qui sont considérés comme cancérigènes à fortes doses (Aline, 2021).
- Une étude réalisée sur l'huile essentielle de basilic a montré que la plante est fongicide et insectifuge (Tyagi et Malik, 2010). De même, et une étude similaire a confirmé que les extraits de cette plante sont très toxiques pour les moustiques (Malhotra et al., 2012).

10 Propriétés biologiques

- Le basilic est également riche en acide rosmarinique (AR), un composé phénolique qui lui confère des **propriétés antioxydants**. Cet acide phénolique a notamment des propriétés **anti-muta géniques, antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoires et antiallergiques** (Kwon, 2019).
- Le basilic peut avoir des effets bénéfiques sur la santé, tels que des **effets antihypertenseurs, anti-âge, anticancéreux, antiviraux, antifongiques et antimicrobiens** (Kwon, 2019).
- Les composés phénoliques, dont l'acide rosmarinique, et l'éthanol contenus dans le basilic auraient des **propriétés anticancéreuses**, notamment sur les cellules cancéreuses de la tête et du cou, en inhibant leurs croissances (Utispan, 2020).
- Par ailleurs, les **composés volatils** présents dans le basilic pourraient avoir des propriétés **antioxydants, antiallergiques, antimicrobiennes, antifongiques, antiprolifératives** ou **immunostimulantes** (Carvalho, 2016).

Chapitre II

Le stress oxydant Et antioxydants



1 Stress oxydant

1.1 Définition

Le stress oxydatif est défini par déséquilibre entre l'apparition d'espèces réactives oxygène/espèces d'azote réactives (ROS/RNS) et les défenses antioxydants cellulaires (Waterman et al., 2002 ; Valko et al., 2007).

L'augmentation du stress oxydatif peut avoir de graves conséquences sur les systèmes biologiques, y compris des dommages moléculaires (tels que les acides nucléiques, les lipides et les protéines), qui peuvent avoir de graves répercussions sur la santé (Valko et al., 2007 ; Carocho et al., 2013). Les dommages causés aux biomolécules ou l'induction de plusieurs espèces réactives secondaires en raison du stress oxydatif conduit finalement à la mort cellulaire (apoptose ou nécrose).

Il a été évalué que le stress oxydatif est associé à plus de 100 maladies, dont les maladies cardiovasculaires, le cancer, l'hypertension, le diabète, les maladies neuro-génératives, le cancer du sein et le vieillissement, etc... (Valko et al., 2007 ; Carocho et al., 2013).

Contrairement à leurs effets néfastes sur la santé, les ERO/ERN peuvent avoir des effets bénéfiques en fonction de leurs emplacements et de leurs rôles dans le système immunitaire, selon leurs fonctions, leurs localisations et leurs quantités. Par exemple, le superoxyde (O_2^{--}) et les radicaux oxyde nitrique ($-NO$) à des concentrations faibles ou moyennes sont impliqués dans les réponses cellulaires et participent aux voies de signalisation cellulaires et participent aux voies de signalisation (Valko et al., 2007). L' H_2O_2 , formé par diverses enzymes oxydases, et l'action de la superoxyde dismutase (SOD), permet de l'utiliser comme une importante molécule de signalisation. Il est également un substrat pour la génération d'autres espèces réactives telles que le HOCl (Murphy et al., 2022 ; Sies et al., 2022). Les ROS sont également impliqués dans les réponses immunologiques, dégradant les composés xénon et les organismes par phagocytose.

1.2 Les radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être définis comme des espèces chimiques instables possédant un électron non apparié qui peut interagir avec d'autres molécules, causant ainsi des dommages oxydatifs (Halliwell et Gutteridge, 2015). Les atomes voisins sont liés les uns aux autres par des liaisons covalentes, c'est-à-dire fondées sur l'appariement naturel des électrons de vecteur magnétique ou $\langle \text{spin} \rangle$ opposé. Lors d'une irradiation, de l'exposition à une source d'énergie

lumineuse ou thermique d'intensité suffisante, ou de réactions chimiques d'oxydoréduction, le couple électronique peut être rompu par rupture homolytique d'une liaison covalente **(R1)**.



La molécule, l'atome neutre ou ionisé portant un ou plusieurs électrons (célibataires) sur son orbitale externe est désignée sous le terme de (radical libre).

La formation de radicaux libres résulte de l'interaction des électrons non appariés avec les molécules environnantes, conduisant à une grande instabilité et réactivité. Lorsque deux radicaux libres se rencontrent, ils peuvent former une molécule stable en partageant leur électron célibataire. Cependant, les radicaux libres ont tendance à oxyder les molécules biologiques, déclenchant une réaction en chaîne où de nouveaux radicaux se forment. Diverses sources externes telles que le rayonnement électromagnétique, les métaux de transition, les fumées de combustion, les produits chimiques et les poussières peuvent générer des radicaux libres. Parallèlement, des phénomènes biologiques tels que la respiration cellulaire peut également produire des radicaux libres d'oxygène. **(Adjélé et Leyli, 2003)**.

Les radicaux libres d'oxygène ont un rôle ambivalent. Ils protègent l'organisme contre les microorganismes et les cellules tumorales, mais ils peuvent également causer des dommages tissulaires et des effets mutagènes. Cette action néfaste de l'oxygène est connue sous le nom de stress oxydant, qui peut être aggravé dans certaines situations pathologiques. **(Adjélé et Leyli, 2003)**.

Les ERO sont des molécules contenant de l'oxygène, y compris des radicaux (comme l'anion superoxyde) et des non-radicaux (comme H₂O₂) qui varient notamment dans leurs capacités chimiques, telles que la diffusion dans les cellules vivantes et la réactivité chimique dans les cellules vivantes et la réactivité chimique avec les biomolécules. Les ROS contiennent l'oxygène singulet le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyles :

L'oxygène singulet est l'état de spin le plus énergétique de l'oxygène moléculaire. En outre, l'augmentation des ROS peut favoriser des mutations de l'ADN et peut favoriser la prolifération incontrôlée et la cancérogenèse **(Carew, 2002)**.

1.3 Conséquence de stress oxydant

Avec l'âge, on observe une modification de l'équilibre pro-oxydant/antioxydant et de ce fait une augmentation du stress oxydant. C'est la principale cause initiale de nombreuses maladies souvent liées au vieillissement : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel quel diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardio-vasculaires etc. (**Tableau 8**).

Tableau 9: Liste des maladies reliées au stress oxydatif (Adjélé et Leyli, 2003)

<ul style="list-style-type: none"> • Arthrite rhumatoïde • Asthme • Athérosclérose • Cancers • Cirrhose • Colites ulcérautes • Diabète sucré • Emphysème • Fibrose kystique • Fibroses pulmonaires • Hémochromatose idiopathique 	<ul style="list-style-type: none"> • Infection au VIH • Maladie d'Alzheimer • Maladie de Crohn • Maladie de Parkinson • Sclérose latérale amyotrophique • Syndrome de détresse respiratoire <p style="text-align: center;">Chez l'adulte</p> <ul style="list-style-type: none"> • Poumon-choc • Veines variqueuses (varices) • Syndrome de Down
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

1.4 Les cibles biologiques de ERO

Le rôle des EOA (éthoxyde d'ammonium) est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leurs concentrations. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription. Citons aussi le processus de fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'EOA pour percer la paroi membranaire de l'ovule (**Haleng et al.,2007**).

Le monoxyde d'azote radicalaire ou NO• est un composé important ; il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases sur la L'arginine. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme (maintien du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal...) (**Hare, 2004**).

Toutefois, le NO• peut former, avec l'anion superoxyde, le peroxydinitrite (HOONO), un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques (**Haleng et al., 2007**).

Formés en trop grande quantité, les EOA deviennent « pathologiques » en activant l'expression de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines d'adhésion. En outre, leurs natures instables les rendent très réactifs vis-à-vis de substrats biologiques et les rend capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies (**Haleng et al., 2007**).

1.4.1 Les lipides membranaires

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) : c'est la phase d'initiation. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyde (ROO•), suffisamment réactif pour arracher un H⁺ à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction (**Atkin et al., 2005**).

Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par le glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues (**Haleng et al., 2007**).

1.4.2 Les protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des EOA. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des

agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (Haleng et al., 2007).

1.4.3 L'ADN

L'ADN est une cible privilégiée pour les EOA. La guanine, par exemple, peut réagir avec \bullet OH pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (Haleng et al., 2007).

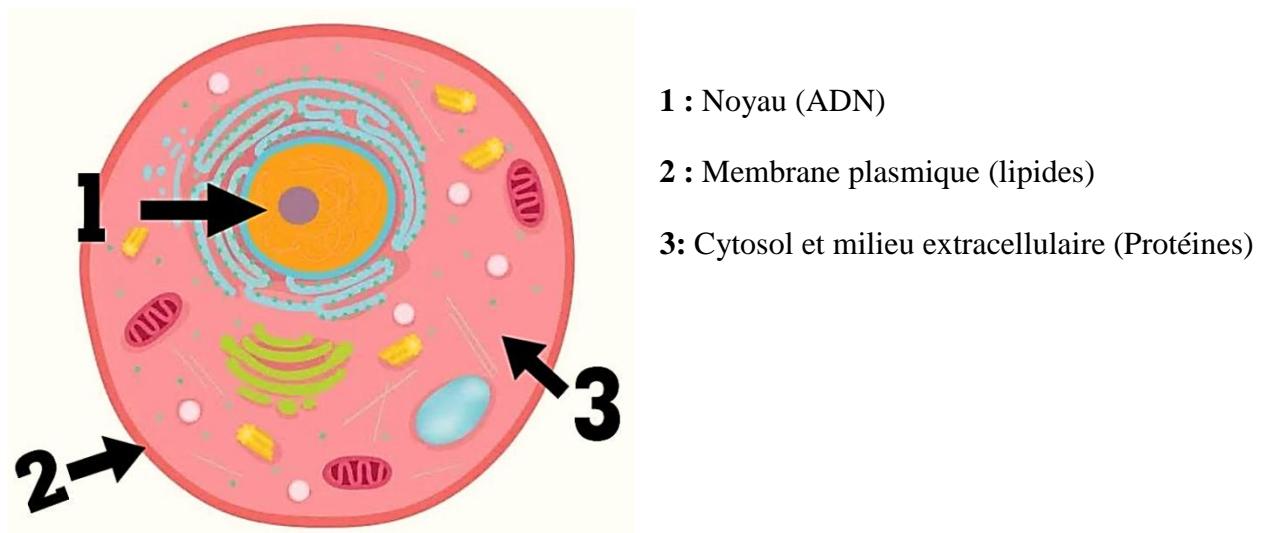


Figure 4: Les sites d'action des radicaux libres dans la cellule (Adjélé et Leyli, 2003)

1.4.4 Les lipoprotéines

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) (Nakajima et al., 2006). En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro inflammatoires par les macrophages (Saad et al., 2006).

1.5 Les défenses antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydants (Figure 5). On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée

par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque ; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, cérulé plasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydants (Haleng et al., 2007).

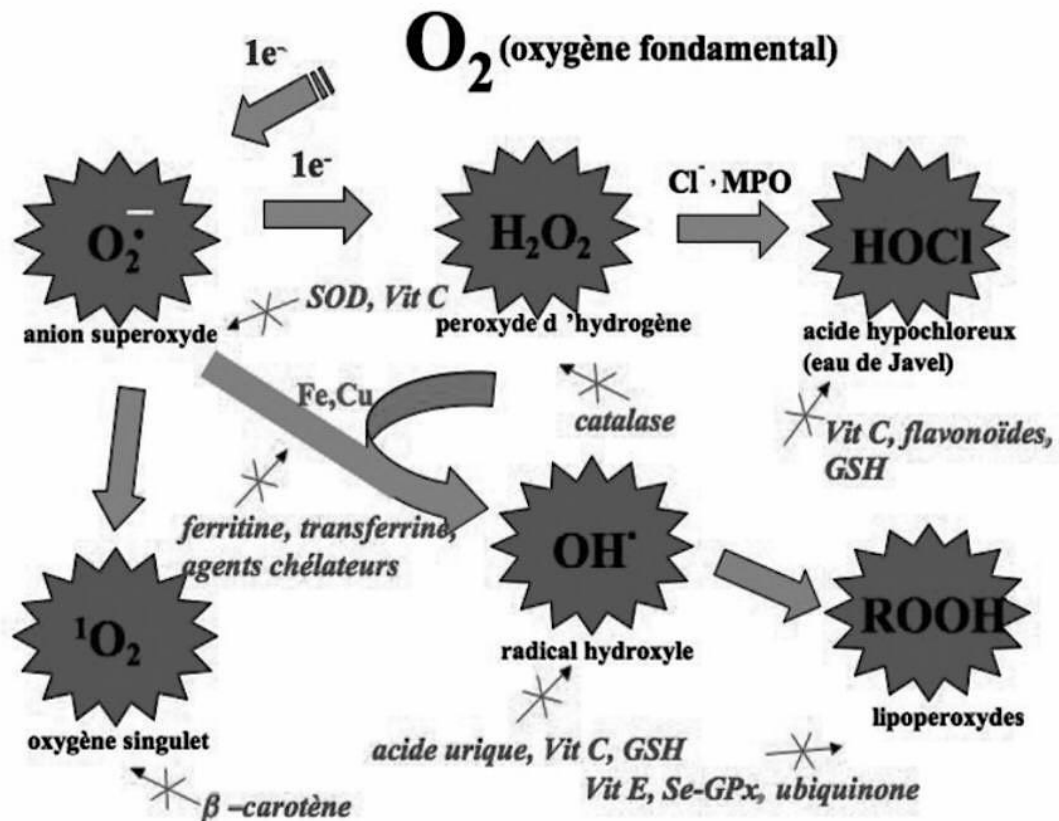


Figure 5: Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production (Haleng et al., 2007).

1.5.1 Les antioxydants enzymatiques

1.5.1.1 Le superoxyde dismutase (SOD)

C'est une métalloprotéine, qui représente une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 iso-enzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur

localisation cellulaire. La SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (**Haleng et al., 2007**).

1.5.1.2 Le système thiorédoxine

C'est l'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit est la thiorédoxine qui est régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR) qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif.

Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (**Haleng et al., 2007**).

1.5.1.3 Glutathion peroxydase (GPxs)

La GPx est une sélénoprotéine (cinq iso formes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence. Toutefois, pour un apport adéquat en sélénium, les teneurs en GPx atteignent un plateau. Le dosage en GPx ne peut donc être utilisé comme marqueur d'une intoxication en sélénium. Cependant, sa synthèse étant rénale et hépatique, d'autres facteurs tels que l'insuffisance rénale ou la cytolyse hépatique peuvent modifier sa concentration (**Haleng et al., 2007**).

1.5.2 Les antioxydants non enzymatiques

1.5.2.1 Le glutathion et les protéines-thiols

Le glutathion est un tri-peptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol sulfhydryle (-SH) majoritaire au niveau intracellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress. Au cours du vieillissement et lors d'un exercice intense, ce rapport tend à diminuer. Les autres propriétés antioxydantes du GSH sont nombreuses : cofacteur de la GPx, chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C, à partir de leur forme radicalaire (**Haleng et al., 2007**).

1.5.2.2 Vitamine E

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols (constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone) et les tocotriénols (qui diffèrent des tocols par la présence de 3 doubles liaisons sur cette chaîne latérale). D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l' α - et le γ -tocophérol. Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes ($\text{ROO}\cdot$) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique. Si l' α -tocophérol est le plus abondant, il semble que le γ -tocophérol soit le plus efficace à ce niveau. Les apports journaliers d' α -tocophérol sont de l'ordre de 10 mg : il se retrouve en quantité variable dans les huiles (soja, maïs, olive) et dans les noix et noisettes. Le γ -tocophérol est présent essentiellement dans l'huile de sésame (**Haleng et al., 2007**).

1.5.2.3 Vitamine C

La vitamine C est un excellent piègeur des EOA ($\text{HO}\cdot$ ou $\text{O}_2\cdot^-$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (**Haleng et al., 2007**).

1.5.2.4 Provitamine A (caroténoïdes)

Plus de 600 caroténoïdes différents ont été isolés à partir de sources naturelles, mais seul un petit nombre d'entre eux se retrouvent dans le sang et les tissus animaux. Les fruits et les légumes en sont les principales sources alimentaires. Tous les caroténoïdes dérivent d'une structure linéaire ($\text{C}_{40}\text{H}_{56}$) avec de nombreuses doubles liaisons, le lycopène, pigment rouge présent notamment dans la tomate et le pamplemousse. Des caroténoïdes ; le β -carotène, également appelé provitamine A, après hydrolyse hépatique, donne naissance à deux molécules de vitamine A. Tous les caroténoïdes ne possèdent toutefois pas cette propriété particulière. Le β -carotène se retrouve dans l'abricot, le melon, la carotte, les légumes verts (épinards, laitue...) : l'apport journalier recommandé est de 1 à 5 mg. (**Haleng et al., 2007**).

Plusieurs études, dont l'étude YALTA (Young Adult Longitudinal Trends in Antioxydants), ont montré que l'effet bénéfique du β -carotène ne survenait qu'à des doses physiologiques ou alimentaires, alors qu'il est plutôt délétère à doses pharmacologiques, particulièrement chez le fumeur (**Hozawa., et al,2007**). Le tabagisme expose à des taux élevés d'EOA endogènes et exogènes et pourrait altérer le métabolisme de certains caroténoïdes, libérant des métabolites pro-carcinogènes (**Haleng et al., 2007**).

1.5.2.5 Oligoéléments

- **Le sélénium** : n'est pas un antioxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx. Dans l'alimentation, on retrouvera essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx. La dose journalière recommandée est de 50- 70 µg/jour. Les aliments riches en sélénium sont, notamment, les noix de Brésil, les brocolis, l'ail (**Haleng et al., 2007**).
- **Le cuivre** : A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, la cytochrome C oxydase, la dopamine β-hydroxylase. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'EOA (réactions de Fenton) et peut – lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant. Les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 2,5 mg. Il est présent dans le son, l'avoine, le seigle, le foie de veau (**Haleng et al., 2007**).
- **Le zinc** : joue un rôle de cofacteur pour de nombreux enzymes et intervient ainsi dans de nombreuses fonctions comme le métabolisme des nucléotides, la synthèse des prostaglandines, le fonctionnement de l'anhydrase carbonique. Comme le cuivre, le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation d'EOA induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre. Le rapport Cu / Zn, (normalement inférieur à 1,5) est un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu. Les aliments les plus riches en zinc sont les viandes et les poissons, les céréales complètes et les légumes secs ; les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 20 mg (**Haleng et al., 2007**).

Partie 2 : Étude expérimentale



Matériel et méthodes



Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche antibiotiques, antifongiques, physico-chimie, synthèse et activités biologiques, Faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd « Tlemcen ».

Notre partie expérimentale est basée sur l'extraction d'huile et la préparation des différents extraits bruts hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle à partir des graines et des feuilles de *Ocimum basilicum* L. Ces extraits ont fait l'objet d'une étude phytochimique (tests phytochimiques et dosages des composés phénoliques) et une évaluation de l'activité antioxydante (test de piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur du Fer : FRAP).

1 Matériel végétal :

Dans ce travail, nous avons étudié les feuilles et les graines du basilic *Ocimum basilicum* L. de la famille des lamiacées (**Figure 6**).



Figure 6:La partie aérienne d'*Ocimum basilicum* L. récoltée dans la région de Ain Youcef wilaya de Tlemcen (**Photo personnelle**).

1.1 Collecte de la plante

La plante a été récoltée en début d'année 2023 dans la région de Ain Youcef wilaya de Tlemcen (Figure 6).

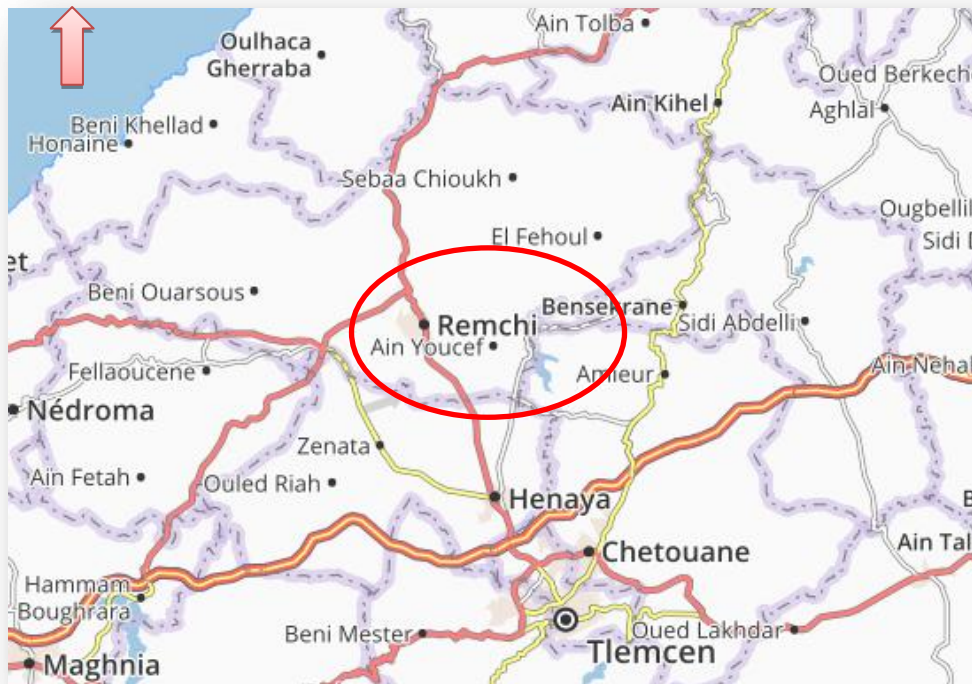


Figure 7: Carte géographique de la région d’Ain Youcef la wilaya de Tlemcen, site de récolte d’*Ocimum basilicum* L (Géologie maps,2000-2001).

La situation géographique et l’étage bioclimatique de la zone de collecte sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10: La situation géographique et stade bioclimatique de la zone de collecte

Région	Altitude	Latitude	Longitude	Etage bioclimatique
Ain Youcef	250 mm	35.05°	-1.36667°	Semi-aride sec et froid

1.2 Séchage, broyage et Conservation

Les graines et les feuilles fraîchement collectées ont été séchées à température ambiante et à l’abri de la lumière et de l’humidité, dans un endroit sec et aéré. Les graines ont été broyées manuellement avec un mortier pour l’extraction d’huile par Soxhlet.

Les feuilles ont été découpées en petits morceaux et ont été désignées pour la préparation des extraits bruts eau-méthanol et leurs fractions acétate d'éthyle.

Les graines et les feuilles broyées ont été conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité, en vue de réaliser des analyses phytochimiques et biologiques.

2 Extraction du matériel végétal

2.1 Extraction des huiles à partir des graines par Soxhlet

L'extraction des huiles des graines d'*Ocimum basilicum* par Soxhlet

L'appareil Soxhlet est composé d'un ballon surmonté, d'un extracteur Soxhlet et d'un réfrigérant 34 g de graines d'*Ocimum basilicum* broyées ont été placées dans l'extracteur Soxhlet, avec 200ml d'hexane placé dans le ballon rodé. L'ensemble est placé dans un chauffe ballon à une température d'ébullition stable (**Figure 8**).

Le solvant récupéré dans le ballon après extraction, a été évaporé à sec à l'aide d'un Rotavapor à 45°C.

L'huile des graines de d'*Ocimum basilicum* a été récupérée dans un tube en verre.

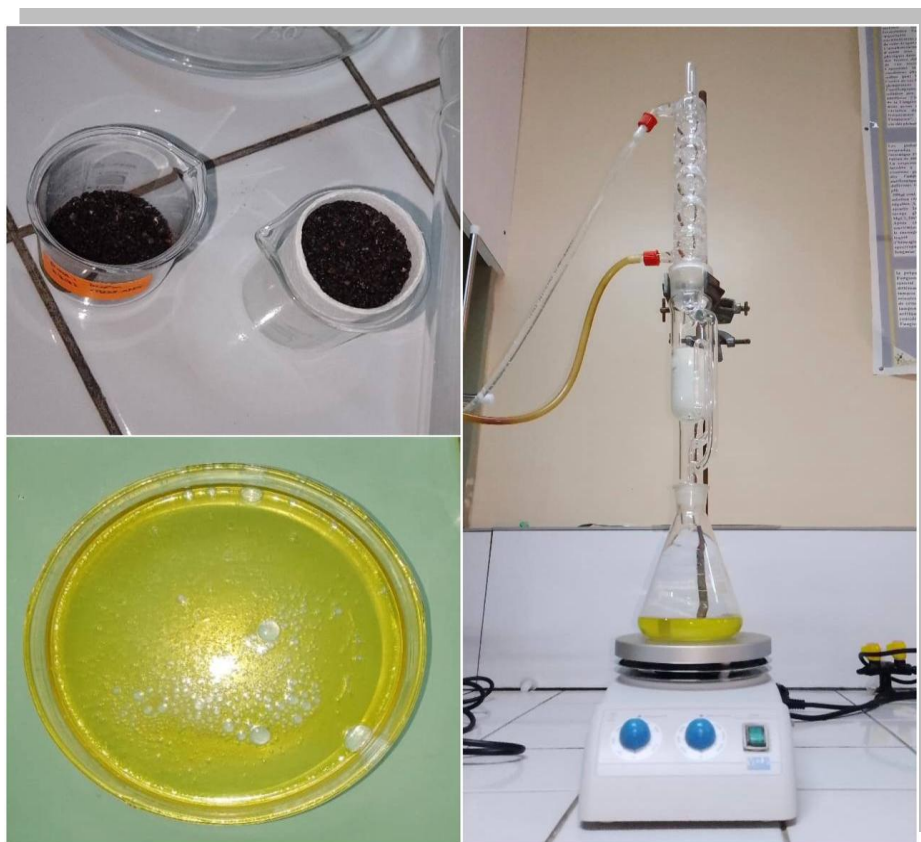


Figure 8:Extraction des huiles à partir des graines par Soxhlet (**photos personale**).

2.2 Calcul du rendement d'huile des graines

Le rendement d'extraction d'huile d'*Ocimum basilicum*. L est calculé par rapport à la quantité des graines utilisée

Le pourcentage est calculé par la formule suivante : $R (\%) = (M1 / M0) \times 100$

- ✓ **R (%)** : Rendement exprimé en % ;
- ✓ **M1** : Masse en gramme l'huile obtenus ;
- ✓ **M0** : Masse en gramme des graines broyées utilisées.

2.3 Préparation des extraits bruts eau-méthanol des feuilles et des graines d'O. Basilicum

2.3.1 Extrait brut préparé par macération

Dans un Erlenmeyer, 10 g de feuilles ou 10g des graines d'*O. Basilicum*, broyées, ont été macérées avec 150ml d'un mélange méthanol/eau v/v (70 /30) pendant 48 h à température ambiante et à l'obscurité.

Après filtration, le filtrat est soumis à une évaporation du méthanol à l'aide d'un Rotavapor à 60°C et un séchage dans une étuve à 35°C. L'extrait brut hydro-méthanoliques, préparé des feuilles (**EBMf**) ou l'extrait brut hydro-méthanoliques, préparé des graines (**EBMg**), ont été conservés à l'abri de l'humidité jusqu'à son utilisation.

2.3.2 Extrait brut préparé par décoction

Dans un ballon rodé surmonté d'un réfrigérant, 10 g de feuilles ou 10g des graines d'*O. Basilicum*, broyées, ont été mises, sous reflux, en contact avec 200 ml d'un mélange méthanol/eau v/v (70 /30) pendant 45 min à température d'ébullition stable.

Après filtration, le filtrat est soumis à une évaporation du méthanol à l'aide d'un Rotavapor à 60°C et un séchage dans une étuve à 35°C. L'extrait brut hydro-méthanoliques, préparé des feuilles (**EBDf**) ou l'extrait brut hydro-méthanoliques, préparé des graines (**EBDg**), ont été conservés à l'abri de l'humidité jusqu'à son utilisation.

2.3.3 Préparation des fractions acétate d'éthyle des feuilles et des graines d'O. Basilicum

Les extraits hydro-méthanoliques, préparés par macération ou décoction, (**EBMf**, **EBMg**, **EBDf** et **EBDg**), récupérés, après évaporation du méthanol, sont soumis à une extraction liquide /liquide, à l'aide d'une ampoule à décanté, par l'hexane (v/v), pour éliminer les graisses et les pigments.

La phase aqueuse récupérée est fractionnée, à l'aide d'une ampoule à décanter, par l'acétate d'éthyle (v/v). La phase organique ainsi récupérée est évaporée à sec à l'aide d'un Rotavapor à 60°C. Les fractions récupérées sont :

- Fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut hydro-méthanoliques par macération des feuilles d'*O. basilicum* (**FAEMf**).
- Fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut hydro-méthanoliques par décoction des feuilles d'*O. basilicum* (**FAEDf**).

2.4 Calcul des rendements

Le rendement d'extraction des extraits préparés *O. basilicum* peut être calculé en mesurant la quantité d'extrait obtenu par rapport à la quantité de matière première utilisée pour l'extraction.

Le pourcentage en extrait a été calculé par la formule suivante : $R (\%) = (M1 / M0) \times 100$

- ✓ **R (%)** : Rendement exprimé en %.
- ✓ **M1** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.
- ✓ **M0** : Masse en gramme du matériel végétal utilisée.

La figure ci-dessous présente un organigramme qui résume les différentes étapes de préparation des extraits :

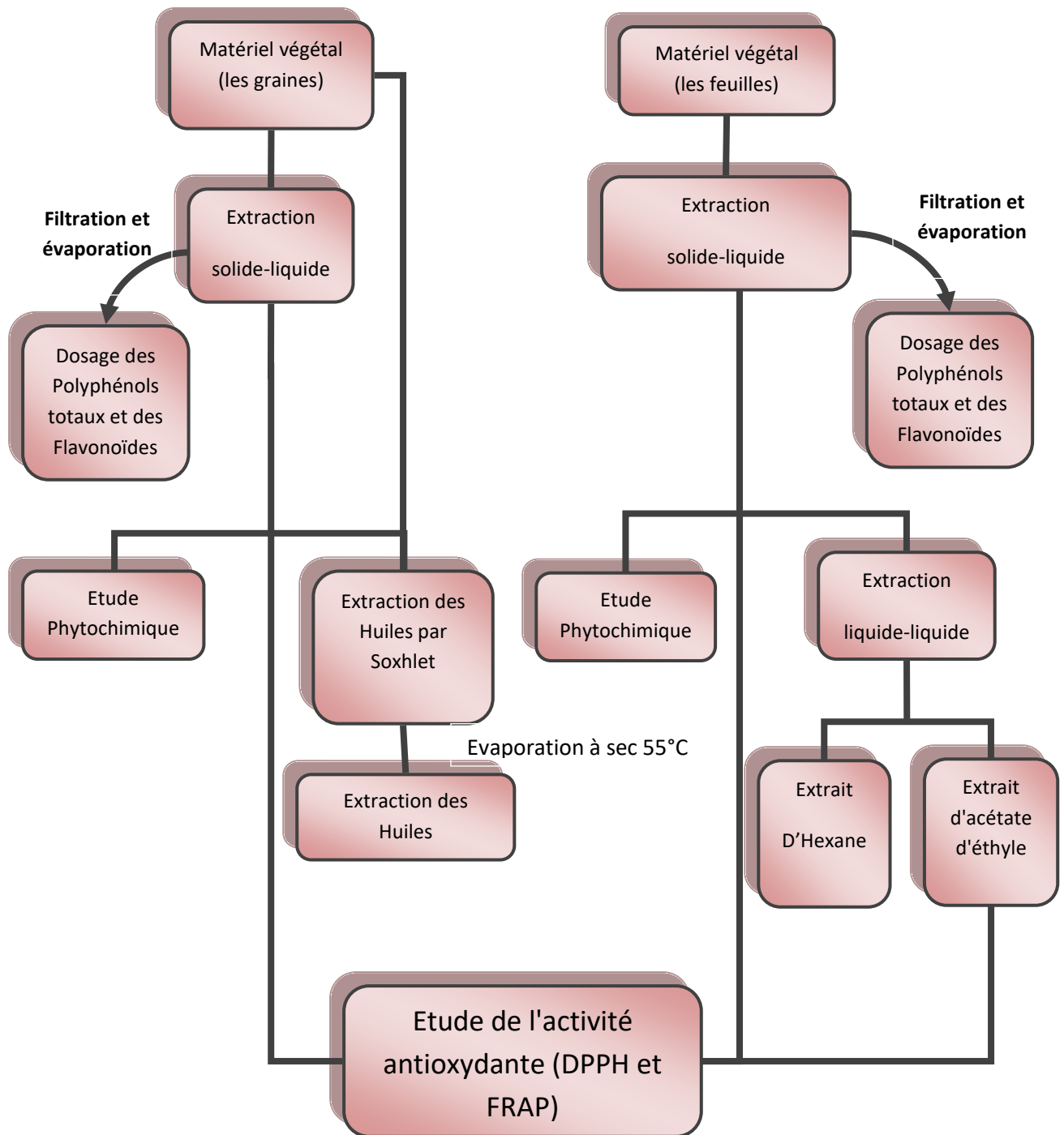


Figure 9: Organigramme sur les différentes méthodes de préparation d'huile et des extraits des graines et des feuilles d'*Ocimum basilicum* L.

L'organigramme 2 suivante (**figure 10**) résumé les étapes de l'extraction.

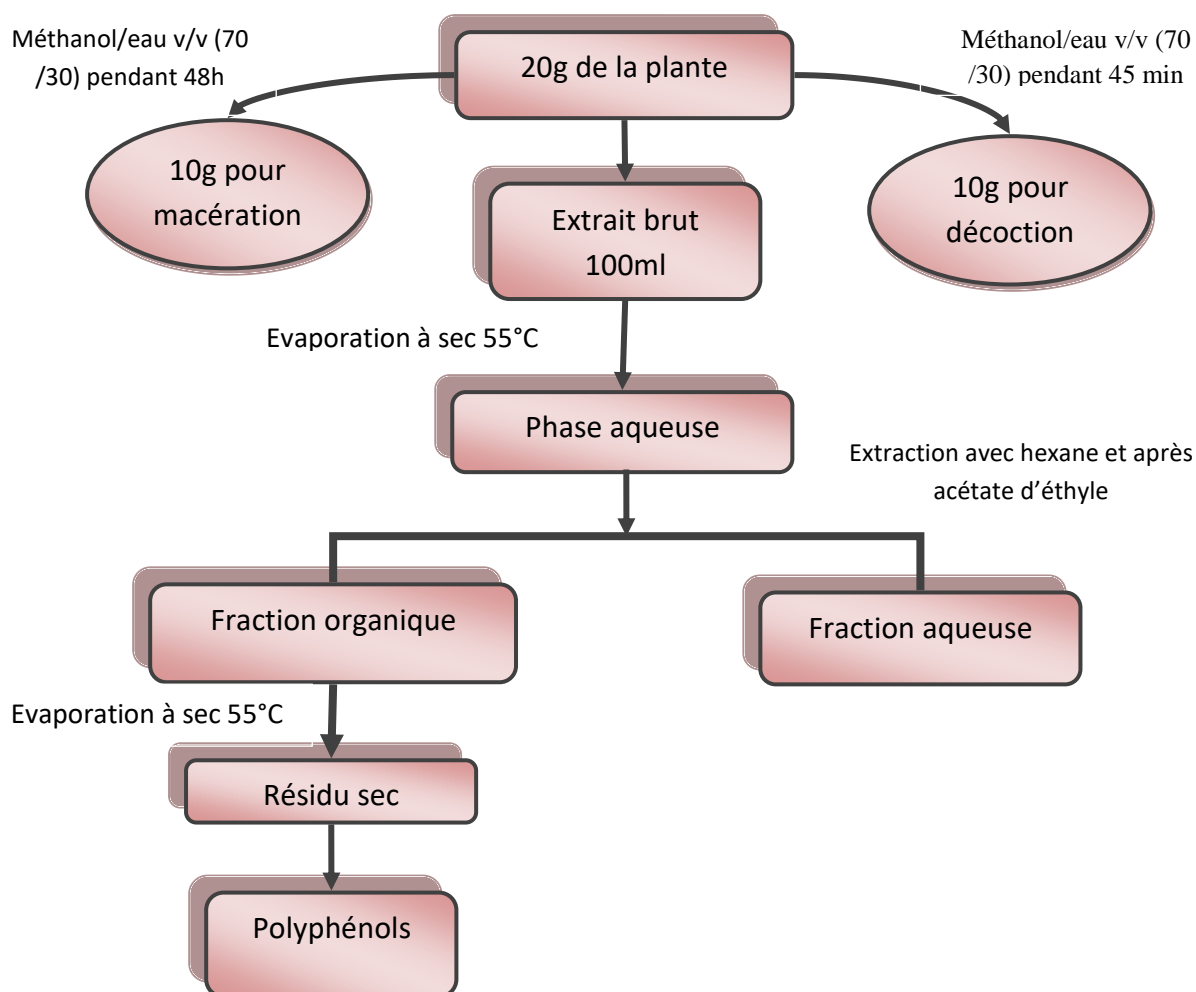


Figure 10: Organigramme 2 expliquant les étapes d'extraction.

3 Les tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont des techniques utilisées pour identifier la présence ou l'absence de composés chimiques dans les extraits de plantes. Ils sont largement utilisés dans le domaine de la recherche en phytothérapie et en pharmacologie pour considérer les composés actifs d'une plante et pour évaluer leur potentiel thérapeutique.

Le principe des tests phytochimiques est basé sur des réactions de coloration ou de précipitation des composants chimiques présents dans les extraits de plantes, en présence des différents réactifs.

Les tests photochimiques ont été effectués selon les techniques décrites par **Bruneton (2009)** et **Harbone (1998)**.

3.1 Composés azotés (les alcaloïdes)

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes.

3.2 Les composés phénoliques

✓ Les tanins

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (1%). Incuber le pendant 15 min à température ambiante. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

✓ Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes.

✓ Les quinones libres

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

✓ Anthraquinones

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml de NH₄OH (10%) puis agiter. L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones.

3.3 Les composés terpéniques

✓ Les saponines : test de mousse

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm de mousse indique la présence de saponines.

✓ Terpénoïdes

Test de Slakowski : Dans un tube à essai, introduire 1 ml de l'extrait à analyser, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marronne à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

3.4 Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1ml d'extrait à analyser et incuber l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

4 Dosage des composés phénoliques

4.1 Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols sont une classe de composés chimiques présents dans de nombreuses plantes, Le dosage des polyphénols totaux dans un extrait de plante est une méthode courante utilisée pour évaluer la teneur en polyphénols de ce dernier.

➤ Le principe

Le principe de dosage des polyphénols totaux repose sur leurs capacités à réagir avec certains réactifs et à former des complexes colorés, qui peuvent être quantifiés à l'aide d'un spectrophotomètre (700 nm). La méthode la plus courante pour doser les polyphénols totaux est la méthode de Folin-Ciocalteu.

Le réactif Folin-Ciocalteu de couleur jaune est composé de l'acide phosphotungstique ($H_3PMo_{12}O_4$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation par les composés phénoliques, il est réduit en un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue qui absorbe à une longueur d'onde de 700 nm. Cette couleur est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon.

➤ Le protocole

La teneur en polyphénols totaux est déterminée par méthode spectrophotométrique suivant le protocole décrit par **Vermerius et Nicholson (2006)**.

- ✓ Mélanger 0,1 ml d'extrait (1mg/ml) avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (2%) ;
- ✓ Agiter et incuber pendant 5 minutes ;
- ✓ Ajouter 0,1 ml de réactif Folin-Ciocalteu (1N) ;
- ✓ Incuber pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante

- ✓ Mesurer l'absorbance est à 700 nm contre un blanc.

En parallèle nous avons préparé une gamme d'étalonnage dans les mêmes conditions à partir d'acide gallique à différentes concentrations de 30 à 500 µg/ml.

Les résultats sont exprimés en en microgramme Équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg Eq AG/ mg ES).

5 Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe de composés chimiques naturels présents dans de nombreuses plantes. Le dosage des flavonoïdes dans un extrait de plante est une méthode courante utilisée pour évaluer la teneur en flavonoïdes

➤ Le principe

Le principe de dosage des flavonoïdes repose sur leurs capacités à réagir avec des réactifs spécifiques, pour former des complexes colorés qui peuvent être quantifiés à l'aide d'un spectrophotomètre (510nm).

Le chlorure d'aluminium forme un complexe acide stable avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes, donnant un complexe de coloration jaune. Ce complexe présente une absorption maximale à une longueur d'onde de 510 nm. En revanche, le nitrate de sodium n'est pas directement impliqué dans la formation de complexes avec les flavonoïdes, mais peut être utilisé dans des procédures d'extraction ou de purification des flavonoïdes.

➤ Le protocole

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée selon le protocole décrit par **Zhichene et al., (1999)**.

- ✓ Mélanger 250 µl de l'extrait (1mg/ml) avec 1 ml d'eau distillée et 75µl du réactif NaNO₂ (15 %) ;
- ✓ Laisser incuber pendant 6 min à température ambiante puis ajouter 75µl du réactif chlorure d'aluminium AlCl₃ à 10% ;
- ✓ Après 6 min, ajouter 1 ml d'hydroxyde de sodium NaOH (4%)
- ✓ Compléter le volume total à 2,5 ml par l'eau distillée ;
- ✓ Agiter le mélange et laisser incuber à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min ;
- ✓ Mesurer l'absorbance à 510 nm.

- ✓ Une gamme d'étalonnage est préparée dans les mêmes conditions avec la catéchine à différentes concentrations de 1, 25 à 500 µg/ml.

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec (µg Eq C /mg ES).

6 L'évaluation de l'activité antioxydant

Deux méthodes d'évaluation d'effet antioxydant des extraits préparés d'*O. basilicum* sont utilisées : le test du piégeage du radical libre DPPH et le test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP)

6.1 Test du piégeage du radical libre DPPH :

Le test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est une méthode courante utilisée pour évaluer l'activité anti radicalaire des échantillons. Le DPPH est un radical libre qui, en présence d'un antioxydant, va subir une réduction et perdre sa couleur caractéristique pour devenir incolore. Le principe du test DPPH consiste à comparer la capacité de l'échantillon testé à piéger le radical DPPH avec celle d'un composé antioxydant de référence, généralement l'acide ascorbique (Figure 18).

➤ Principe

Pour réaliser ce test, l'échantillon testé est mélangé avec une solution de DPPH et incubé dans l'obscurité pendant un certain temps. La quantité de DPPH est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 517nm. Une diminution de l'absorbance indique une capacité antioxydante plus élevée.

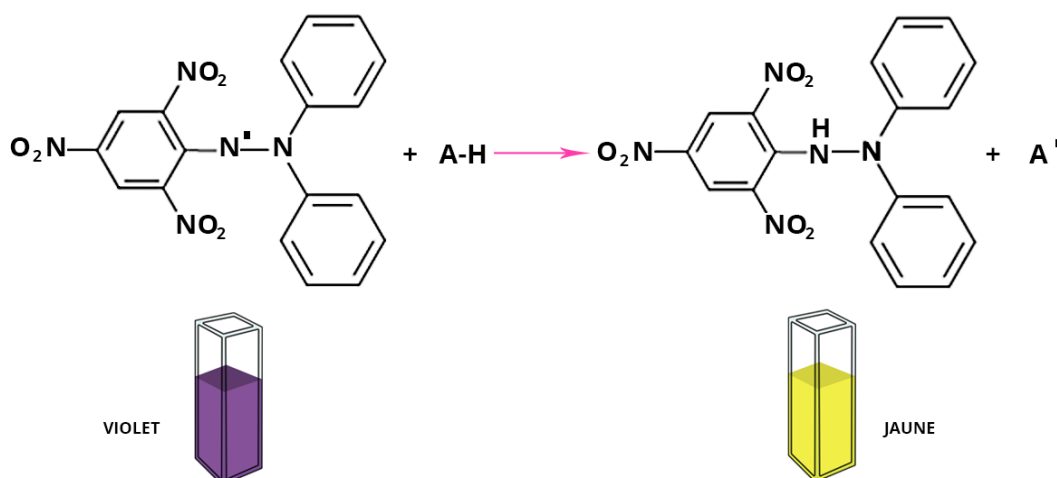


Figure 11: Réduction du radical DPPH (Behrendroff et Al., 2013).

➤ **Le protocole**

Le pouvoir anti radicalaire des extraits préparés a été réalisé selon le protocole décrit par **Atoui et al., (2005)**.

- ✓ 50 µl des solutions d'extraits à différente concentration de (0,2 à 2mg/ml) ont été ajoutés à 1950 µl DPPH (0,0025g fraîchement préparé dans du méthanol)
- ✓ Pour chaque concentration un blanc est préparé contenant 50 µl de chaque concentration d'extrait et 1950 µl du méthanol.
- ✓ Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950µl de la solution méthanolique de DPPH.
- ✓ La lecture de l'absorbance est faite à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.
- ✓ Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les extraits.
- ✓ Pour chaque concentration, le test est répété 3fois.

➤ **Calcul des pourcentages d'inhibition**

$$I (\%) = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{éch}}) / A_{\text{cont}}] \times 100$$

- ✓ I (%) : Pourcentage d'inhibition.
- ✓ A_{cont} : Absorbance du contrôle négatif.
- ✓ A_{éch} : Absorbance de l'échantillon testé.

➤ **Calcul des CI₅₀**

Le CI₅₀ est définie comme étant la concentration de l'extrait qui provoque l'inhibition de 50% du radical libre DPPH.

Elle est déterminée à partir de l'équation des courbes de régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits étudiés. Elle permet de déterminer l'extrait le plus efficace avec la valeur la plus faible en CI50.

6.2 Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est une autre méthode couramment utilisée pour mesurer la capacité antioxydant des échantillons. Le principe du test FRAP consiste à

comparer la capacité de l'échantillon testé à réduire le Fe^{3+} avec celle d'un composé antioxydant de référence, généralement l'acide ascorbique. (**Figure 18**).

➤ Principe

Pour réaliser ce test, l'échantillon testé est mélangé avec une solution de Fe^{3+} . La quantité de Fe^{2+} réduit est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance indique une capacité antioxydant plus élevée.

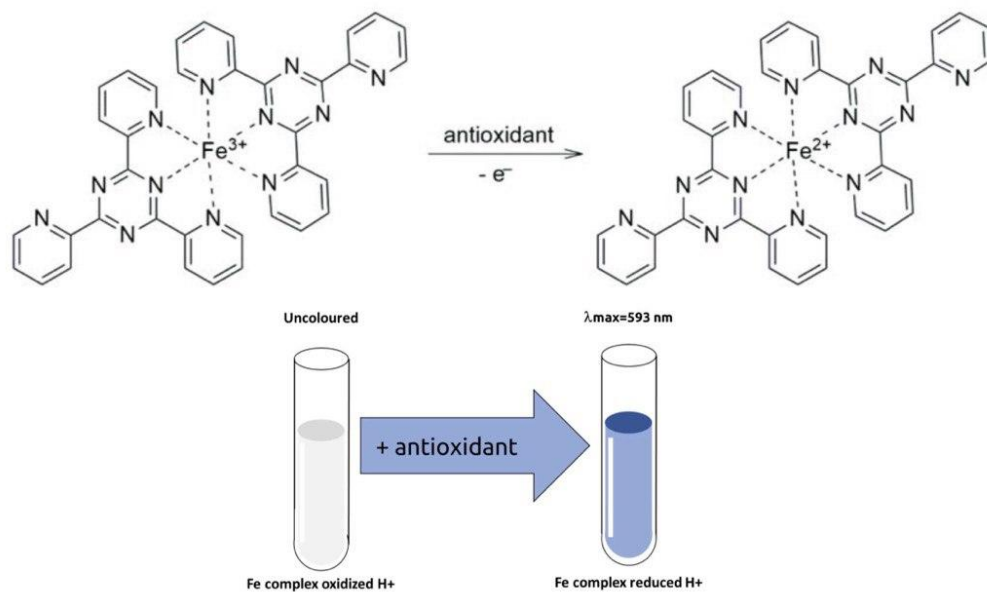


Figure 12:Réduction du radical FRAP (XIAO et al.,2020)

➤ Le protocole

Le pouvoir réducteur a été déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu, (1986)** :

- ✓ Mélanger 100 μl de l'extrait à différentes concentrations (de 0,2 à 2 mg/ml) avec 250 μl d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 250 μl d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%) ;
- ✓ Incuber l'ensemble à 50°C pendant 20 minutes dans l'étuve ;
- ✓ Laisser le mélange refroidir,
- ✓ Ajouter 250 μl de l'acide trichloracétique (TCA (10%)) pour stopper la réaction ;
- ✓ Centrifuger l'ensemble à 3000 rpm pendant 10 min ;

- ✓ Combiner 500 µl de surnageant avec 500µl d'eau distillée et 100µl d'une solution aqueuse de chlorure de fer (FeCl₃ (0,1%)) ;
- ✓ Mesurer l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc, préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.
- ✓ Pour chaque concentration, le test est répété 3fois.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits dans différentes concentration (0,01 à 0,4 mg/ml)

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

➤ Expression des résultats d'EC50

L'EC50 est définie comme étant la concentration efficace de l'extrait qui donne une réponse demi-maximale.

Il déterminé à partir de l'équation de la courbe de régression linéaire des absorbances obtenus en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits de la plante étudiée. Il permet de déterminer l'extrait le plus efficace avec la valeur la plus faible en EC₅₀.

7 Analyse statistique

Les teneurs en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydant des extraits étudiés sont réalisées en trois répétitions et les résultats sont présentés en moyenne et en écart type :

❖ Moyenne

$$\bar{x} = \frac{(x_1 + x_2 + \dots + x_n)}{(n)} = \frac{1 \sum x_j}{n}$$

❖ Écart-type

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Résultats et discussions



1. Caractéristique d'huile et des extraits préparés

1.1. Rendement et caractéristique d'huile

Le rendement en huile de graines d'*Ocimum basilicum* obtenu après un extraction de 4heures par Soxhlet a été calculé par rapport à la masse des graines broyées de la plante et la masse des huiles obtenu.

L'huile obtenu est un liquide visqueux jaune de forte odeur avec un rendement d'ordre de 20,41%.

1.2. Rendements et caractéristiques des extraits préparés

L'extraction eau-méthanol (30/70 v/v) des feuilles et des graines dégraissées d'*O. basilicum* par décoction (sous reflux, 45min) ou macération (48h), nous a permis de récupérer quatre extraits bruts (EBDf, EBMf, EBDg et EBMg), après évaporation à sec.

Les extraits bruts préparés à partir des feuilles ont subi un fractionnement liquide-liquide avec l'acétate d'éthyle ; ce qui nous a permis de récupérer deux fractions organiques (FAEDf et FAEMf), après évaporation à sec.

La couleur, l'aspect physique, la solubilité et le rendement d'extraction de chaque extrait préparé sont regroupés dans le (Tableau 10).

Tableau 11: Rendements et caractéristiques des différents extraits préparés des feuilles et des graines d'*O. basilicum*.

Les extraits	Couleur	Aspect	Solubilité	Rendement %
FAEDf	Marron	Caramélisé	Méthanol	0,82
FAEMf	Vert	Caramélisé	Méthanol	1,04
EBDf	Marron	Poudre	Eau distillée	10,82
EBMf	Marron	Poudre	Méthanol	10,21
EBDg	Marron	Poudre	Eau distillée	2,92
EBMg	Marron Claire	Caramélisé	Eau distillé	2,11

FAEDf : Fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par décoction des feuilles, **FAEMf** : Fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par macération des feuilles ; **EBDf** : Extrait brut préparé par décoction des feuilles ; **EBMf** : Extrait brut préparé par macération des feuilles ; **EBDg** : Extrait brut préparé par décoction des graines ; **EBMg** : Extrait brut préparé par macération des graines.

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que les rendements d'extraction varient d'un extrait à l'autre. Les résultats obtenus ont montré que le choix de la méthode d'extraction et de la partie utilisée peut avoir un impact significatif sur le rendement en composés bioactifs En ce qui concerne les feuilles, les rendements des extraits préparés par décoction ou macération

(**EBDf**, **EBMf**) sont relativement élevés, avec des valeurs respectives de 10,82% et 10,21%. Cependant, les rendements des fractions d'acétate d'éthyle des feuilles récupérées de ces deux méthodes sont nettement plus faibles, avec des valeurs de 0,82% et 1,04%, respectivement. Cela pourrait indiquer que la majorité des composés bioactifs extraits par la décoction et la macération ne sont pas très solubles dans l'acétate d'éthyle.

Par ailleurs, les graines, les rendements d'extraction des extraits préparés par décoction ou macération (**EBDg**, **EBMg**) des graines sont plus faibles que ceux obtenus à partir des feuilles, avec des valeurs respectives de 2,92% et 2,11

Ces résultats soulignent l'importance de choisir la méthode d'extraction appropriée en fonction des composés bioactifs que l'on cherche à extraire et de la partie de la plante étudiée.

Les rendements mentionnés dans les travaux sont des mesures de la quantité de résidu sec ou d'extrait obtenue à partir des différentes méthodes d'extraction. Ils fournissent des informations sur l'efficacité de l'extraction et la quantité de composés extraits des feuilles.

Tableau 12: Comparaison des rendements des autres différents extraits préparés des feuilles et d'*O. basilicum*.

Les extraits	Rendement %	References
Fraction d'acétate d'éthyle	1,79	Maidi et Dahia.,2013
Extrait aqueux des feuilles	16,77	Bensaid, A.,2022
Extrait éthanolique des feuilles	5,36	Bensaid, A.,2022

Dans travaux publiés, les rendements de fraction d'acétate d'éthyle, d'extrait aqueux et d'extrait éthanolique des feuilles ont tous des rendements plus élevés par rapport notre travail. La fraction d'acétate d'éthyle présente un rendement de 1,79%, ce qui suggère qu'elle est obtenue en quantités plus importantes par rapport aux fractions FAEMf et FAEMg. Les rendements d'extrait aqueux des feuilles et d'extrait éthanolique des feuilles sont encore plus élevées aux extraits bruts préparés, atteignant respectivement 16,77% et 5,36%.

La différence de rendements entre les deux travaux peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que les différences dans les méthodes d'extraction utilisées, les conditions expérimentales, la qualité des feuilles utilisées et les caractéristiques des composés recherchés. Il est important de noter que les rendements ne sont qu'une mesure de la quantité de matière extraite et ne donnent pas d'indication directe de la qualité ou de la valeur des composés extraits.

2. Tests phytochimiques

Le tableau 12 renferme les résultats des tests phytochimiques réalisés sur les différents extraits bruts eau-méthanol préparés par décoction ou macération des feuilles et des graines d'*O. basilicum*.

Tableau 13: Résultats des tests phytochimiques des différents extraits préparés des feuilles et des graines d'*O. basilicum*

Extrait	Saponines	Mayer	Wagner	Alcaloïdes :	Tanins	Flavonoïdes	Composés réducteurs	La quinone	L'antraquinone	Les terpénoïdes
EBDf	+	+	-		+	+	+	-	-	-
EBMf	-	+	+		+	+	+	-	-	+
EBDg	+	+	+		+	+	+	-	-	-
EBMg	-	-	-		+	+	+	+	-	+

EBDf : Extrait brut préparé par décoction des feuilles ; **EBMf** : Extrait brut préparé par macération des feuilles ; **EBDg** : Extrait brut préparé par décoction des graines ; **EBMg** : Extrait brut préparé par macération des graines.
(-) Absence de métabolite ; (+) Présence de métabolite.

Les résultats des tests phytochimique ont montré la présence d'alcaloïdes, tanins, flavonoïdes et composés réducteurs dans les deux extraits bruts hydro-méthanoliques préparés par décoction ou macération des feuilles de basilic. Les saponines sont présentes seulement dans l'extrait préparé par décoction et les terpénoïdes sont présentes seulement dans l'extrait préparé par Macération. Alors que, les quinones et l'antraquinones sont noté absents dans les deux extraits testés.

Par ailleurs, les tests phytochimiques réalisés sur les extraits bruts hydro-méthodiques des graines de basilic ont révélé la présence des saponines, alcaloïdes, tanins, flavonoïdes et composés réducteurs dans l'extrait préparé par décoction et des tanins, flavonoïdes, composés réducteurs, quinones et terpénoïdes dans l'extrait préparé par macération. Par contre, Les anthraquinones sont absentes dans les deux extraits testés.

Notre étude a montré que l'utilisation du solvant hydro-méthanoliques avec les méthodes d'extraction par décoction et de macération a permis d'extraire plusieurs classes de composés phytochimiques des feuilles et des graines d'*Ocimum basilicum*. Certains composés, tels que les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, étaient présents dans tous les extraits étudiés. Cependant, il

y avait des différences dans la présence d'autres composés, tels que les saponines et les terpénoïdes.

Ces résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par **Nguyen et al. (2021)**, qui ont révélé la présence des alcaloïdes, tanins, flavonoïdes et terpénoïdes dans l'extraits bruts éthanoliques et des saponines, tanins, flavonoïdes, composés réducteurs et terpénoïdes dans l'extraits bruts aqueux des feuilles d'*Ocimum basilicum*.

Il est important de noter que les résultats des études peuvent varier en fonction de l'origine de la plante, des parties de la plante étudiée, des méthodes d'extraction appliquées et des solvants utilisés.

Il serait intéressant de poursuivre la recherche phytochimique pour mieux comprendre les variations dans la composition chimique d'*Ocimum basilicum* et pour déterminer les conditions d'extraction les plus appropriées. Ces informations pourraient avoir des implications dans l'utilisation potentielle de l'*Ocimum basilicum* à des fins médicinales, nutritionnelles ou autres.

3. Le dosage des composés phénoliques

3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en composés polyphénols totaux des différents extraits de la plante étudiée ont été calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (**Figure 13**).

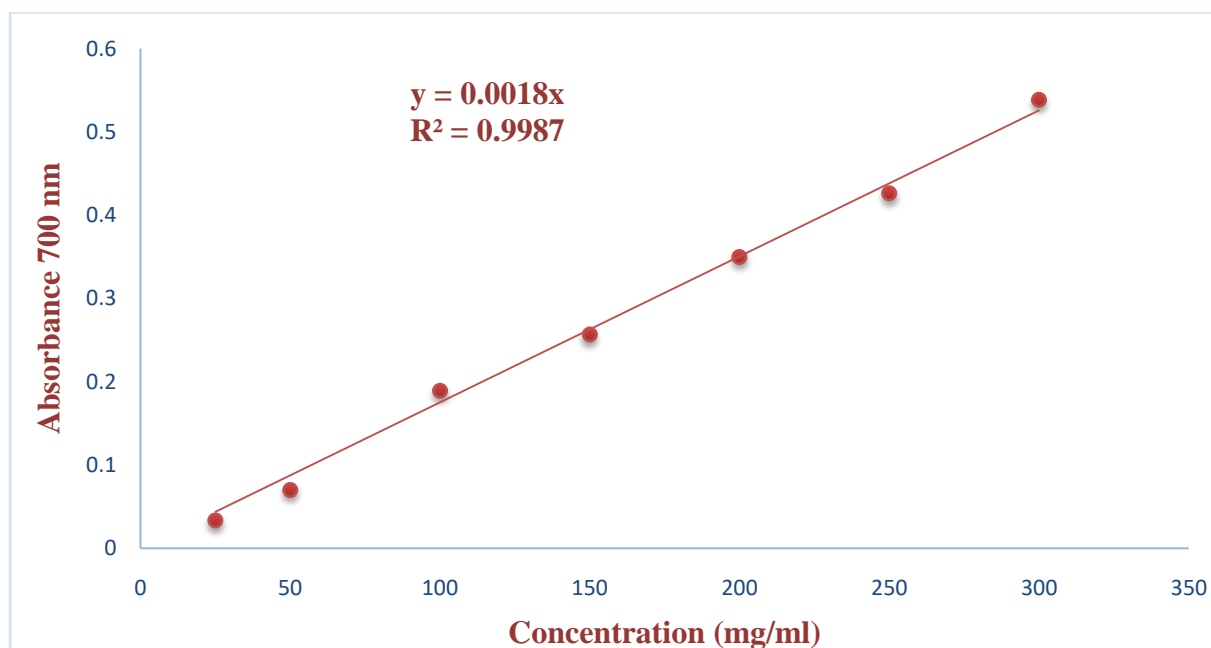


Figure 13: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour dosage des polyphénols

Les résultats sont exprimés en en microgramme Équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$) (**Tableau 13**).

Tableau 14: Les teneurs en polyphénols totaux des extraits préparés d'*Ocimum basilicum*

Les extraits	Teneurs en polyphénols totaux $\mu\text{g Eq AG/ mg ES} \pm \text{Écarte type}$
FAEDf	$150,72 \pm 16,66$
FAEMf	$176,03 \pm 16,66$
EBDf	$226,88 \pm 50,0$
EBMf	$290,74 \pm 17,24$
EBDg	$133,98 \pm 27,7$
EBMg	$113,02 \pm 15,00$

FAEDf : Fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par décoction des feuilles, **FAEMf** : Fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par macération des feuilles ; **EBDf** : Extrait brut préparé par décoction des feuilles ; **EBMf** : Extrait brut préparé par macération des feuilles ; **EBDg** : Extrait brut préparé par décoction des graines ; **EBMg** : Extrait brut préparé par macération des graines.

Selon les résultats obtenus, les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées sont enregistrées pour l'extrait brut préparé par macération des feuilles ($290,74 \mu\text{g Eq AG/ mg ES}$), suivi par l'extrait brut préparé par décoction des feuilles ($226,88 \mu\text{g Eq AG/ mg ES}$). Leurs fractions acétate d'éthyle ont noté des teneurs plus faibles de l'ordre de $176,03 \mu\text{g Eq AG/ mg ES}$ pour la fraction récupérée de l'extrait brut préparé par macération (**FAEMf**) et de l'ordre de $150,73 \mu\text{g Eq AG/ mg ES}$ pour la fraction récupérée de l'extrait brut préparé par décoction (**FAEDf**).

Les extraits bruts préparés par décoction ou macération des graines de basilic ont présenté les teneurs les plus faible en polyphénols totaux de l'ordre de $113,02 \mu\text{g Eq AG/ mg ES}$ et $133,98 \mu\text{g Eq AG/ mg ES}$, respectivement.

Ces résultats ont indiqué que les extraits préparés de feuilles ont des teneurs plus élevées en polyphénols totaux que ceux des extraits préparés de graines. De plus, l'extraction par macération semble être plus efficace que l'extraction par décoction pour extraire les polyphénols totaux des feuilles. Ces résultats peuvent aider à guider le choix de la méthode d'extraction appropriée pour l'extraction des composés phénoliques à partir de cette plante.

3.2. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits ont été calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de la Catéchine (**Figure 14**).

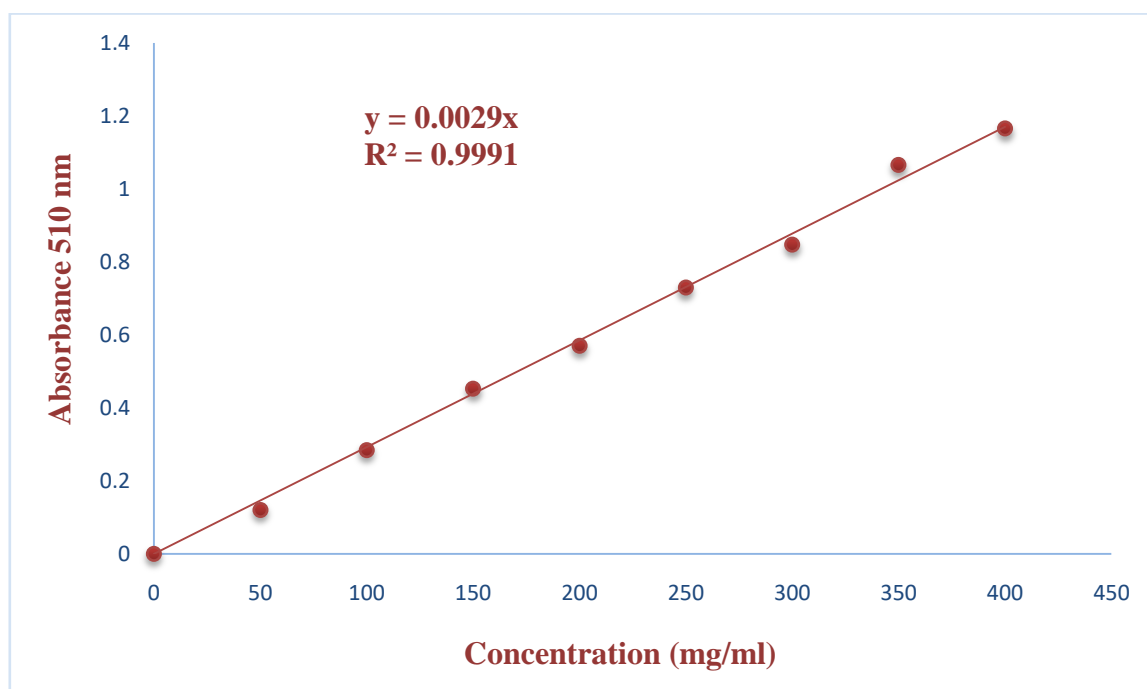


Figure 14: La courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

Les résultats sont exprimés en en microgramme Équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq C/ mg ES}$) (**Tableau 14**).

Tableau 15: Les teneurs en flavonoïdes des extraits préparés d'*Ocimum basilicum*

Les extraits	Teneurs en flavonoïdes $\mu\text{g Eq C/ mg ES} \pm \text{Écarte type}$
FAEDf	$264,36 \pm 13,73$
FAEMf	$278,16 \pm 17,24$
EBDf	$145,97 \pm 3,44$
EBMf	$62,06 \pm 6,89$
EBDg	$81,6 \pm 3,44$
EBMg	$80,45 \pm 6,89$

FAEDf : Fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par décoction des feuilles, **FAEMf** : Fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par macération des feuilles ; **EBDf** : Extrait brut préparé par décoction des feuilles ; **EBMf** : Extrait brut préparé par macération des feuilles ; **EBDg** : Extrait brut préparé par décoction des graines ; **EBMg** : Extrait brut préparé par macération des graines.

Selon les résultats obtenus, nous avons constaté que les fractions acétate d'éthyle, récupérés des extraits bruts, préparés par macération (**FAEMf**) ou décoction (**FAEDf**, des feuilles de basilic, ont présenté les teneurs les plus élevée en flavonoïdes de l'ordre de $278,16 \mu\text{g Eq C/ mg ES}$ et $264,36 \mu\text{g Eq C/ mg ES}$, respectivement, par rapport aux extraits bruts préparés

Par ailleurs, l'extrait brut préparé par décoction des feuilles a enregistré une teneur élevée en flavonoïdes de l'ordre de 145,97 $\mu\text{g Eq C/ mg ES}$, par rapport aux extraits bruts préparés.

De même, Nous avons noté que les teneurs en flavonoïdes des extraits préparés par décoction ou macération à partir de feuilles d'*Ocimum basilicum* sont plus élevées que celles obtenus des extraits bruts obtenus des graines de la même plante.

En comparant nos résultats avec d'autres études réalisées sur la même plante, nous avons constaté que notre plante présente des teneurs en composés phénoliques plus élevées par rapport à celles rapportées dans d'autres travaux.

Le tableau 15 résume quelques résultats des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des travaux d'*Ocimum basilicum*, récolté dans différentes régions du monde.

Tableau 16: Travaux réalisés sur les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes, des extraits d'*O. basilicum*, récoltés dans différentes régions du monde (Shackelford et al., 2009).

Extrait/Origine	Polyphénols totaux (mg/ml)	Flavonoïdes (mg/ml)	Références
<i>Ocimum basilicum</i> /Danemark	31,37 \pm 1,29	5,84 \pm 0,64	Shackelford et al., 2009
<i>Ocimum basilicum</i> /Cuba	60,47 \pm 2,19	4,64 \pm 0,05	Shackelford et al., 2009
<i>Ocimum basilicum</i> /Inde	43,56 \pm 2,13	6,12 \pm 0,70	Shackelford et al., 2009

Les différences entre les résultats obtenus et ceux des études antérieures peuvent être expliquées par la présence de plusieurs paramètres qui peuvent influencer sur la quantité et la qualité des composés phénoliques, nous citons : l'origine de la plante, stade de croissance, la partie utilisée et la méthode d'extraction.

Il convient également de noter que les teneurs en composés phénoliques varient selon la partie de la plante utilisée et selon la méthode d'extraction et le solvant utilisés. Les résultats obtenus dans cette étude peuvent donc être utiles pour guider le choix de la méthode d'extraction la plus appropriée pour isoler les composés phénoliques spécifiques à partir de cette plante.

Les composés phénoliques sont connus pour avoir des propriétés antioxydants et bénéfiques pour la santé humaine. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydant des extraits bruts et leurs fractions acétate d'éthyle, riches en composés phénoliques, préparés des feuilles et des graines d'*O. basilicum*.

4. Évaluation de l'activité antioxydant

Dans cette partie, nous avons évalué l'activité antioxydant des différents extraits bruts eau-méthanol préparés par décoction ou macération des feuilles et des graines d'*O. basilicum*, et leurs fractions acétate d'éthyle, par deux méthodes : test du piégeage du radical libre DPPH et la recherche du pouvoir réducteur de fer (FRAP)

4.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

Pour évaluer l'activité antioxydant et la capacité de réduction des radicaux libres en présence des extraits étudiés, nous avons utilisé le test piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats sont présentés sous forme courbes de régressions logarithmiques de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction de l'acide ascorbique utilisé comme référence (**figure15**) ainsi que les concentrations des extraits étudiés d'*O. Basilicum* (**Figures 16 aux 21**).

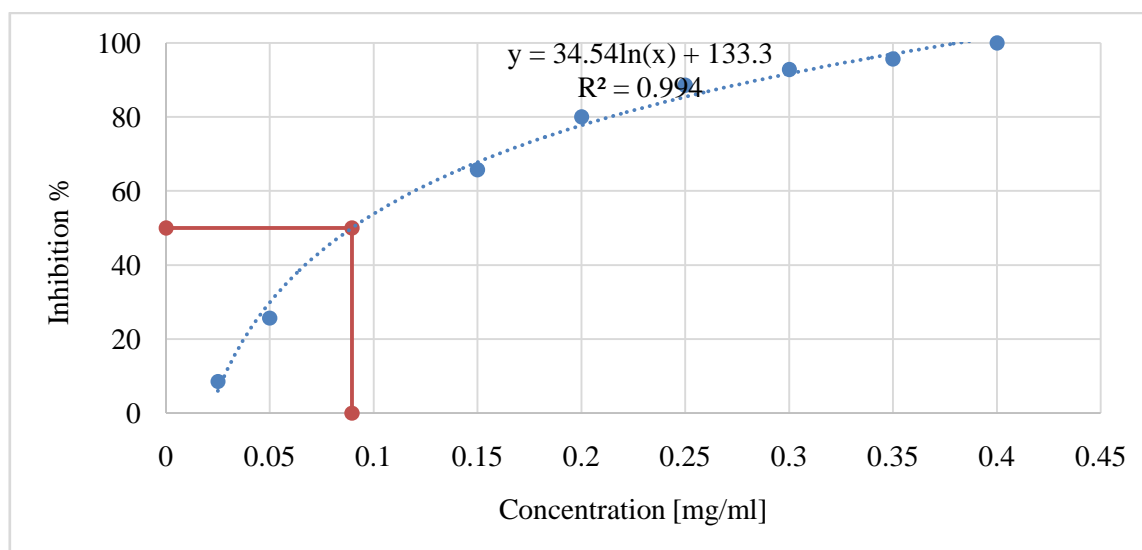


Figure 15: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

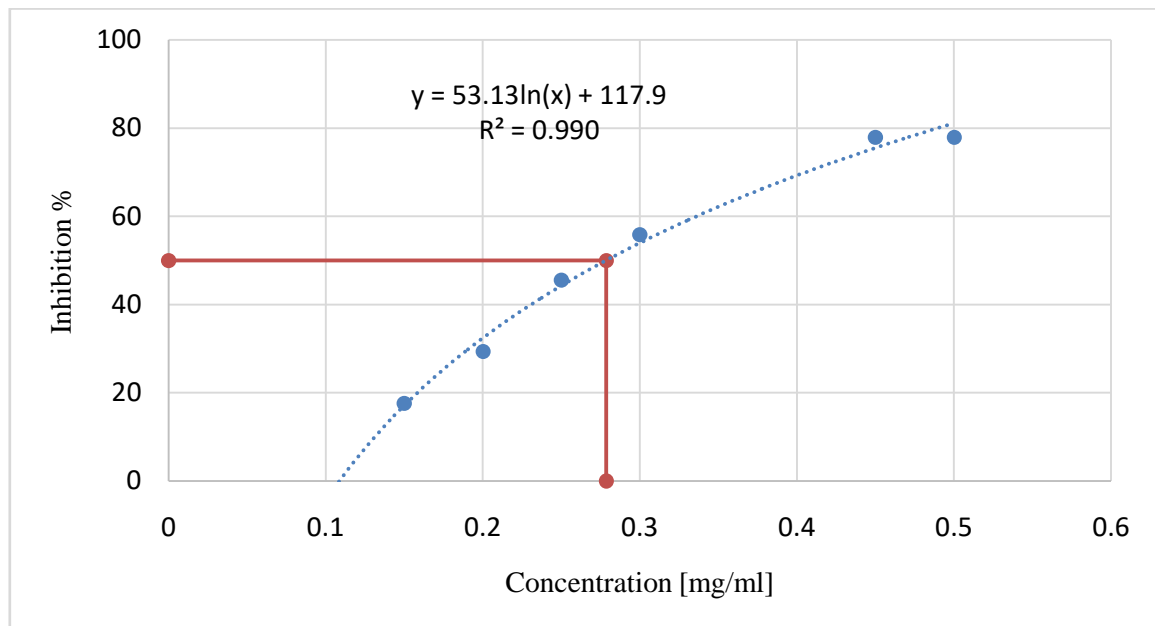


Figure 16: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de la fraction acétate d'éthyle préparée par décoction des feuilles d'*O. Basilicum*.

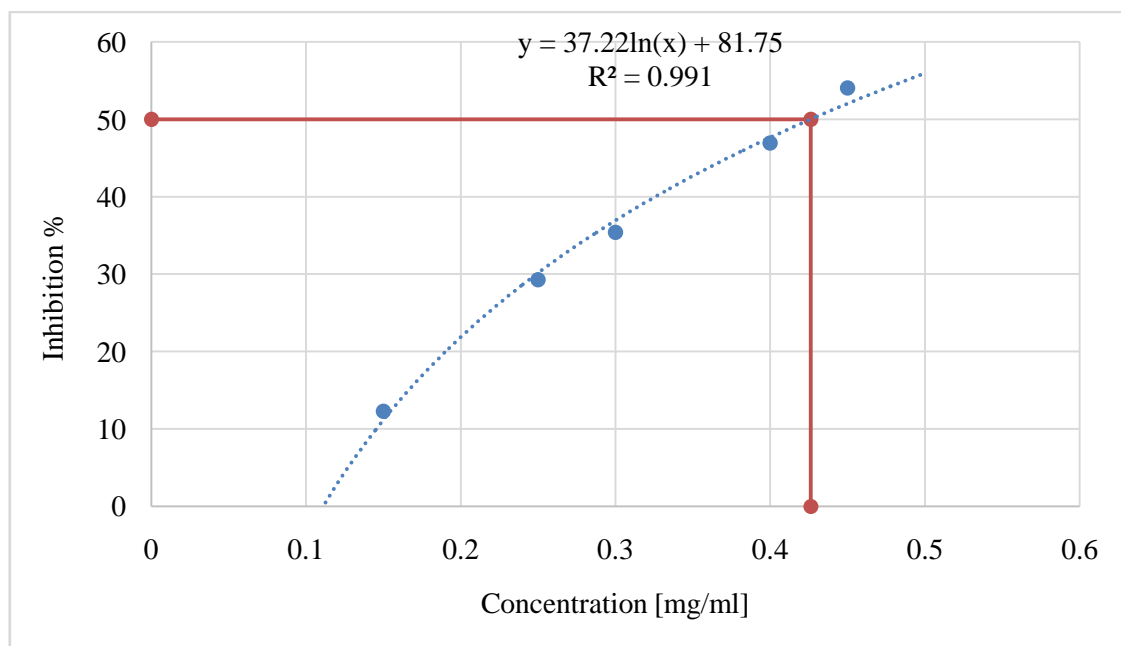


Figure 17: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de la fraction acétate d'éthyle préparée par macération des feuilles d'*O. Basilicum*.

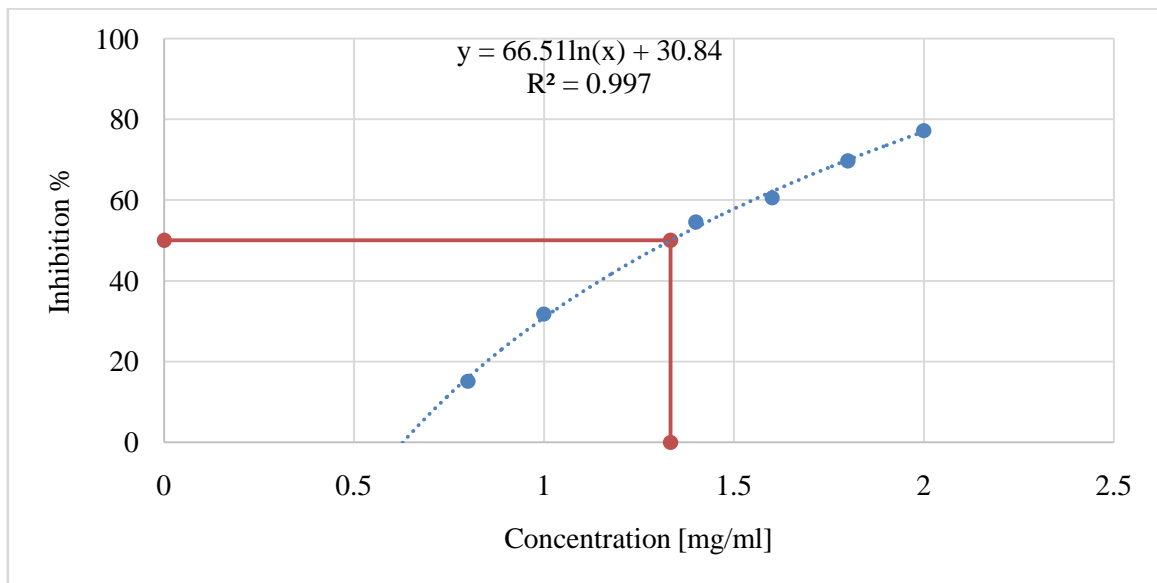


Figure 18: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par macération des feuilles d'*O. Basilicum*.

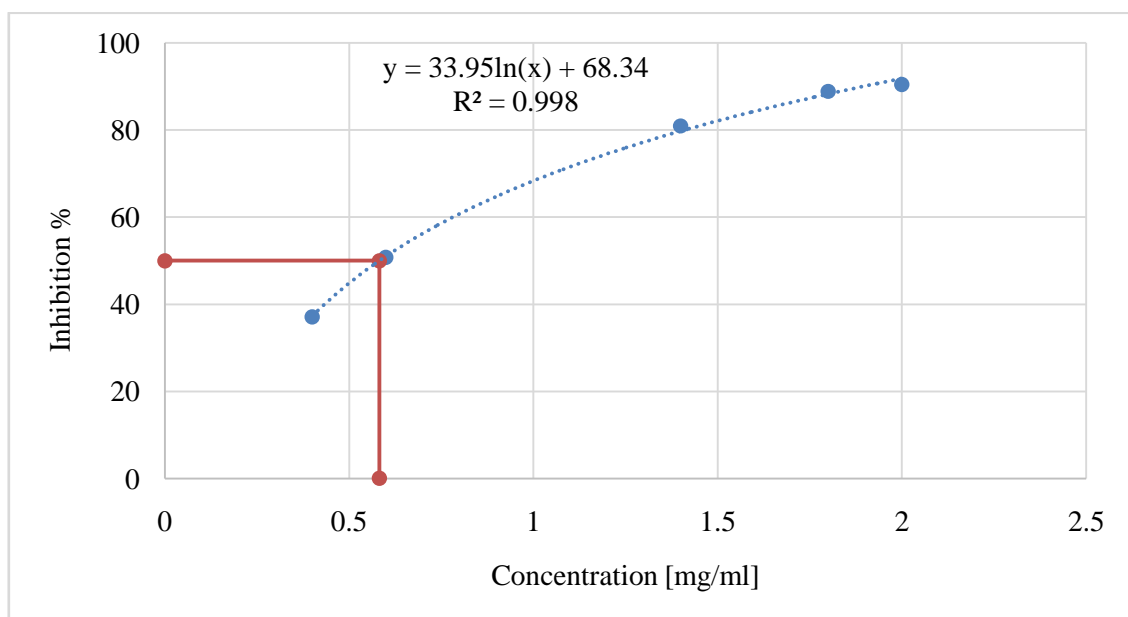


Figure 19: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par décoction des feuilles d'*O. Basilicum*.

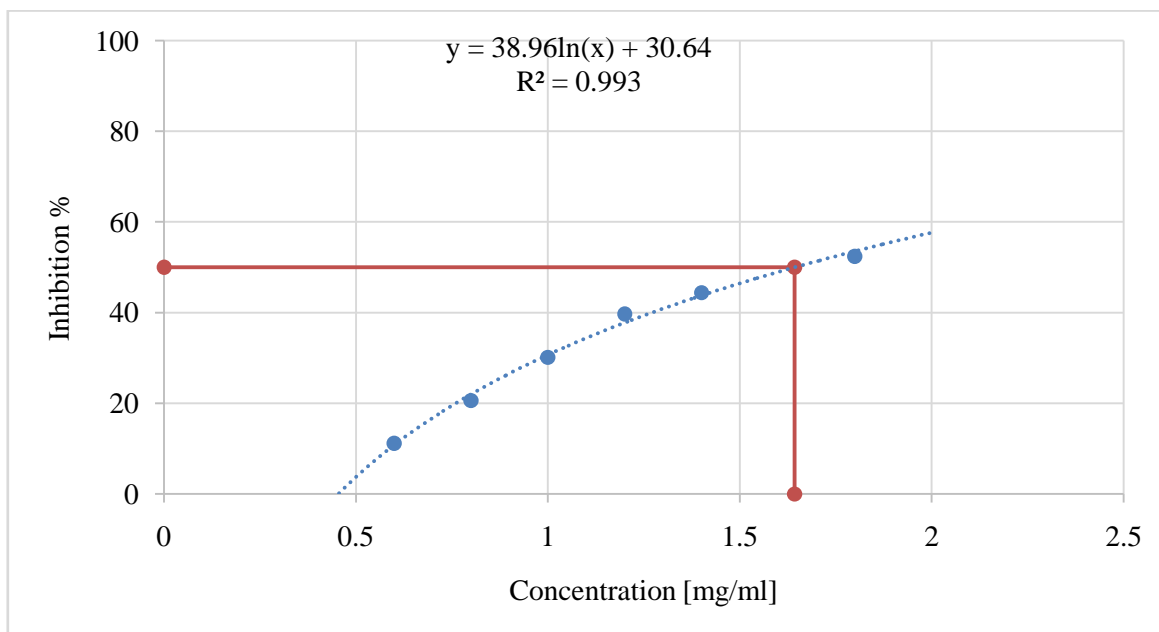


Figure 20: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par macération des graines d'*O. Basilicum*.

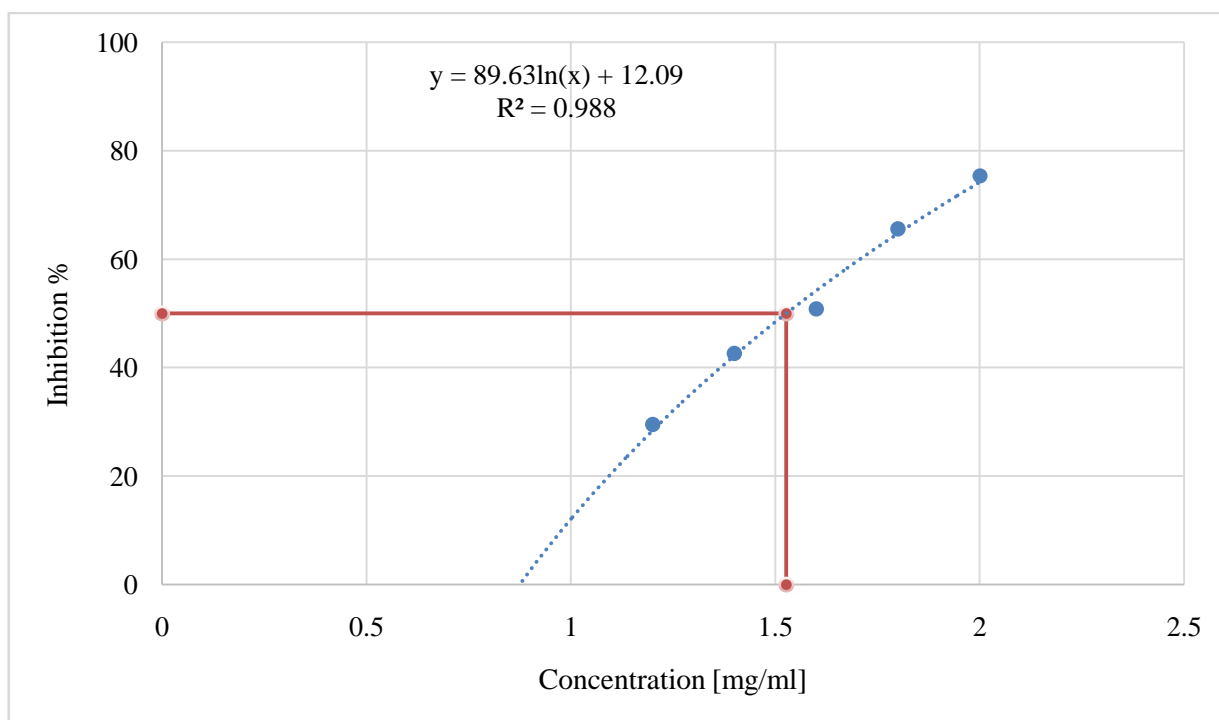


Figure 21: Courbe de la variation des pourcentages d'inhibition DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par décoction des graines d'*O. Basilicum*.

Les valeurs des CI_{50} des extraits préparés et de l'acide ascorbique ont été regroupées dans le **Tableau 16**. L' CI_{50} correspond à la concentration nécessaire pour piéger 50% du radical libre DPPH. Plus la valeur d' CI_{50} est faible, plus l'activité antioxydant est élevée.

Tableau 17: Les valeurs des CI50 de l'acide ascorbique et les différents extraits préparés d'*Ocimum basilicum*.

Extraits et antioxydant de référence	CI50 (mg/ml)
Acide ascorbique	0,089
FAEDf	0,27
FAEMf	0,42
EBDf	0,58
EBMf	1,33
EBDg	1,52
EBMg	1,64

FAEDf : Fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par décoction des feuilles, **FAEMf** : Fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par macération des feuilles ; **EBDf** : Extrait brut préparé par décoction des feuilles ; **EBMf** : Extrait brut préparé par macération des feuilles ; **EBDg** : Extrait brut préparé par décoction des graines ; **EBMg** : Extrait brut préparé par macération des graines.

D'après les résultats obtenus, nous avons noté que les fractions acétate d'éthyle récupérées des extraits bruts préparés par décoction (**FAEDf**) ou par macération (**FAEMf**) des feuilles d'*O. Basilicum* ont présenté la plus forte activité antioxydant avec des valeurs de CI₅₀ de l'ordre de 0,27 mg/ml et 0,42mg/ml, respectivement. Cette activité reste faible par rapport à celle obtenue par l'acide ascorbique, qui a enregistré une CI₅₀ de l'ordre de 0,089 mg/ml.

De même, nous avons marqué que les extraits bruts préparés par décoction ou macération des feuilles d'*O. Basilicum* ont montré une activité antiradicalaire plus importante que celle des extraits bruts préparés des graines d'*O. Basilicum*, avec des valeurs de CI₅₀ de l'ordre de 0,58 et 1,33, respectivement.

La comparaison des résultats obtenus dans notre étude (**Tableau 16**) avec d'autres travaux sur la même espèce en utilisant le même test (DPPH) est portée dans le **tableau 17**.

Tableau 18: Comparaison des CI50 de différents extraits préparés d'*O. Basilicum* avec quelques travaux.

Les extraits	CI ₅₀ mg/ml	Référence
Extrait éthanolique	0,09	Nguyen et al., 2021
Extrait aqueux	0,26	Nguyen et al., 2021

En comparant les résultats de ces deux études, nous avons que l'extrait éthanolique présente une activité antioxydante plus forte que toutes les fractions et extraits testés dans notre étude, indiquant son potentiel élevé en tant qu'agent antioxydant. Cependant, il est important de prendre

en compte les différences des méthodes d'extraction, de la région de récolte et de la partie utilisée dans les deux études, ce qui peut influencer les résultats.

4.2. Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP)

Pour l'évaluation de l'activité antioxydant de différents extraits préparés des feuilles et des graines de *O. basilicum* par le test du pouvoir réducteur de fer (FRAP), nous avons tracé des courbes de régression linéaire illustrant la variation des absorbances (à 700nm) en fonction des concentrations de l'acide ascorbique utilisé comme référence (**figure 22**) ainsi que les concentrations des extraits étudiés d'*O. Basilicum* (**Figures 23 aux 28**).

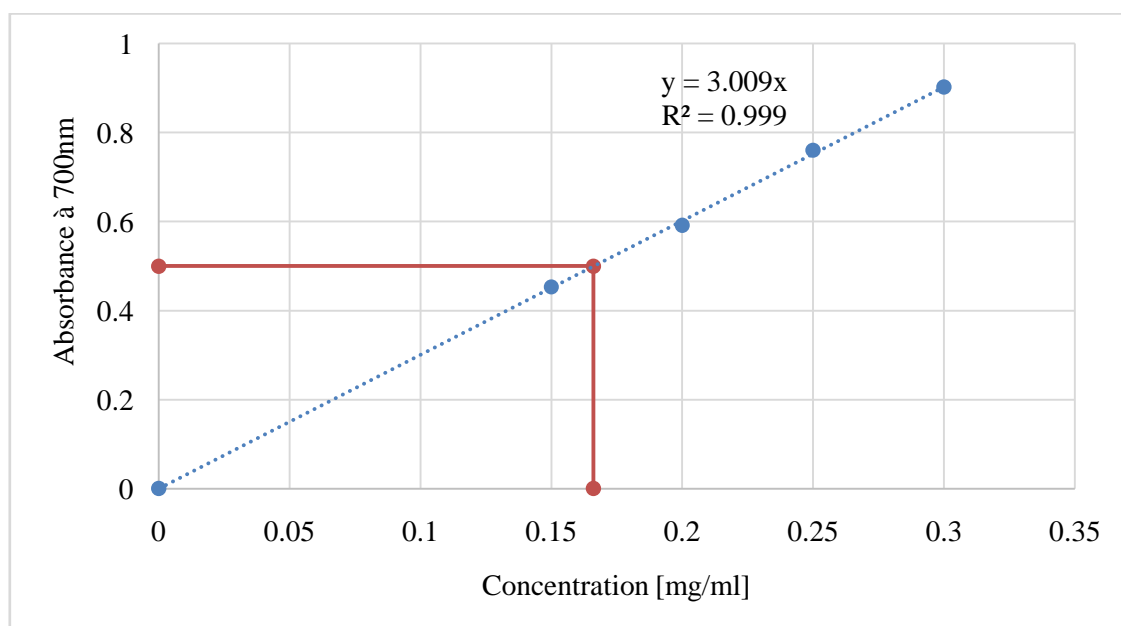


Figure 22: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

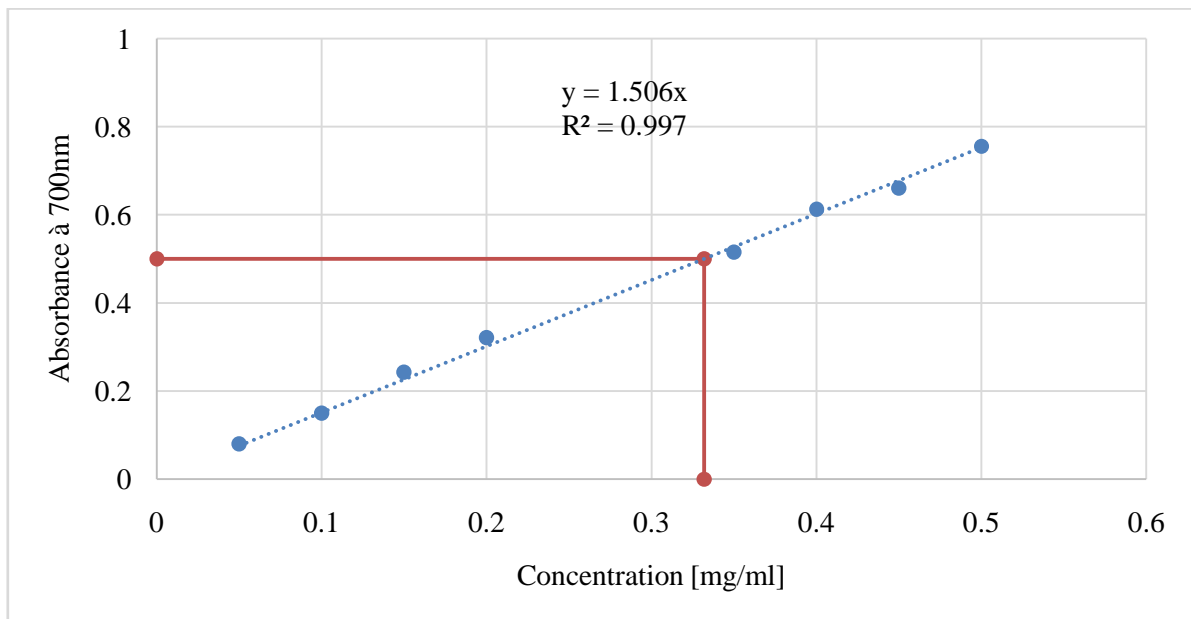


Figure 23: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de la fraction acétate d'éthyle préparée par décoction des feuilles d'*O. Basilicum*.

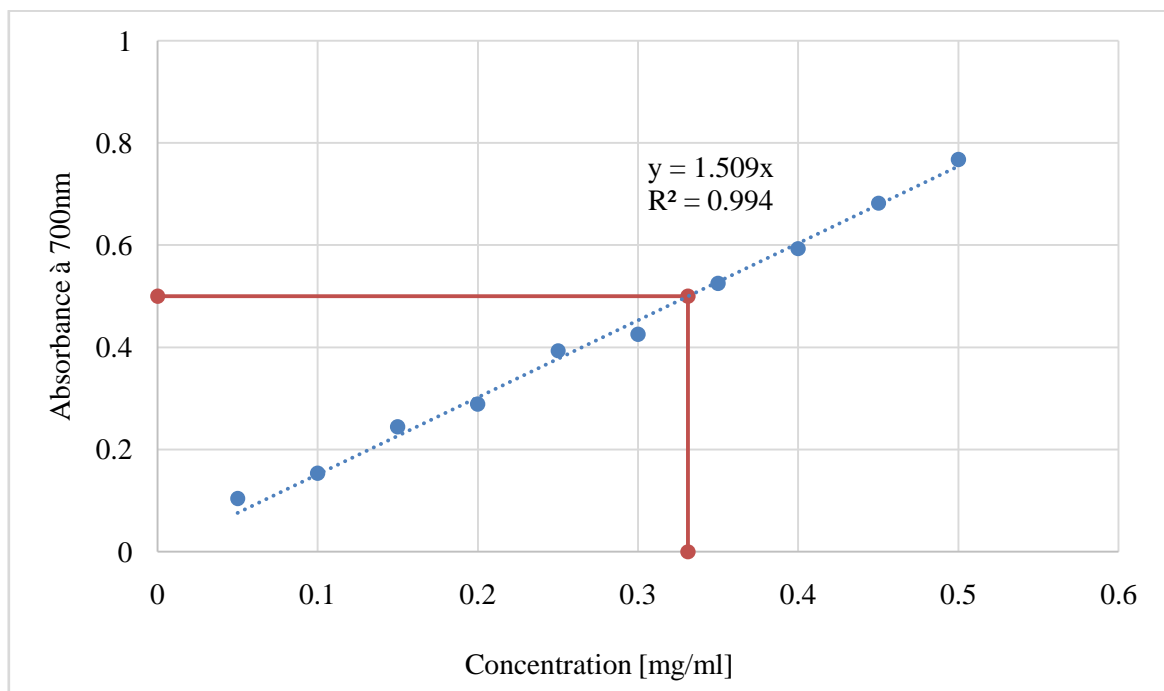


Figure 24: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de la fraction acétate d'éthyle préparée par macération des feuilles d'*O. Basilicum*.

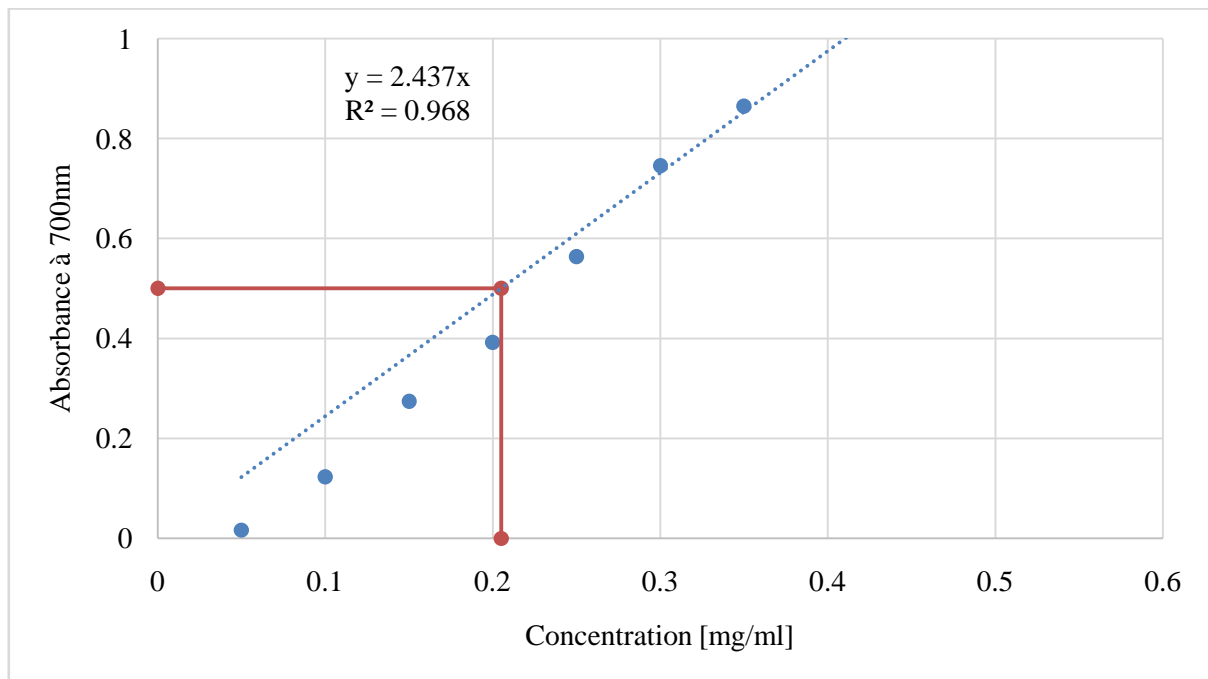


Figure 25: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par décoction des feuilles d'*O. Basilicum*.

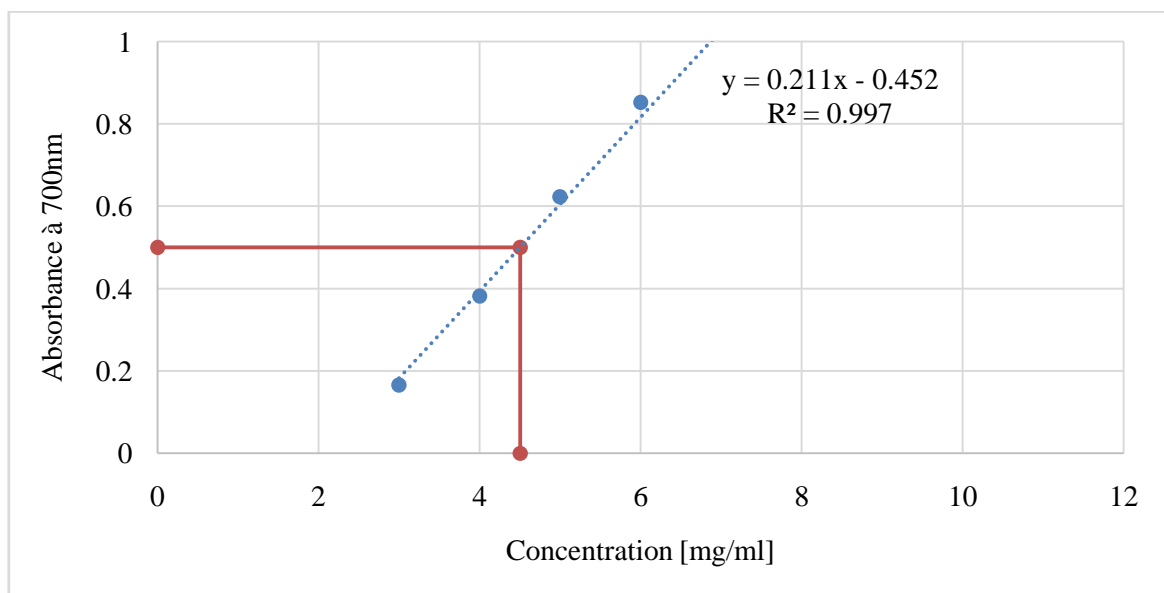


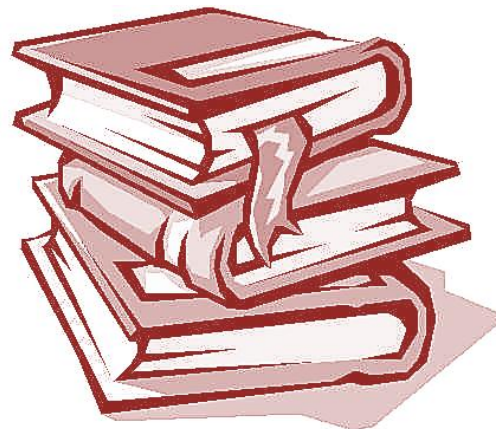
Figure 26: Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP), la variation des absorbances en fonction des concentrations de l'extrait brut préparé par macération des feuilles d'*O. Basilicum*.

Conclusion et perspectives



- Isolement, identification et caractérisation des composés phénoliques par méthodes spectrométriques et chromatographiques ;
- Recherche d'autres activités biologiques d'*O. basilicum*, telles que l'activité anti-inflammatoire, antidiabétique etc....
- Évaluer les mécanismes d'actions des composés impliqués dans les activités recherchées.

Références bibliographiques



-A-

1. Abdullah, N. A. P., Samsudin, N. S., & Abd Gani, S. S. (2020). Chemical compositions and physicochemical properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) seeds and oils: A review. *Journal of essential oilresearch*, 32(3), 157-170.
2. Adjélé W, Leyli S. Les Radicaux Libres ,Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, DESS IST, 2002-2003.
3. Ali, A.; Akhtar, N.; Khan, B. A.; Khan, M. S.; Rasul, A.; Zaman, S.-U.; Khalid, N.; Waseem, K.; Mahmood, T.; Ali, L., (2012). *Acacia nilotica*: A plant of multipurpose medicinal uses. *J. Med. Plants Res.*, 6 (9): 1492-1496.
4. Aline, M. (2021). Basil Essential Oil: Benefits, Precautions, and Usage. Retrieved from <https://www.healthline.com/health/> .
5. Aprifel (2019). Fiche basilic. Disponible en ligne <https://www.aprifel.com/fr/>
6. Arabici O. et Bayram E. (2004) The effect of nitrogen and different plant density on some agronomic and technologic characteristic of *Ocimum basilicum* L. (Basil). *Asian Network for Scientific Information*. 3(4), 255-262.
7. Atkin MA, Gasper A, Ullegaddi R, et al. (2005) Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma: response to antioxidants in vitro and to antioxidants supplementation. *Clin Chem*, , **51**, 2138-2144.

-B-

8. Baytop T. Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present). 1984.
9. Belkamel, Youssef Dehbi & Allal Douira (2008) Évaluation de la biomasse et analyse des huiles essentielles de trois variétés de basilic (*Ocimum basilicum* L.) cultivées au Maroc, *Acta Botanica Gallica*, 155:4, 467-476, DOI: 10.1080/12538078.2008.10516126
10. Bensaid, A. (2022). Propriétés anti-oxydants, anti-inflammatoires et antispasmodiques *d'Ocimum basilicum*. Thèse de doctorat. Université de Montpellier.
11. Bora, K. S., & Sharma, A. (2011). Chemistry and medicinal properties of the genus *Ocimum*. In *The genus Ocimum* (pp. 219-258). CRC Press.

-
12. Bouziane, O. M. et Khenfer, I. (2022) Valorisation de l'huiles essentielles de basilic comme bio insecticide.

-C-

13. Carew, J. S. (2002). Reactive oxygen species and cellular defense systems. In Kasten, FH, &Trettin, LD (Eds.), *Antioxidants in Therapy and Preventive Medicine* (pp. 1-14). Springer US.
14. Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.
15. Carvalho, L., Ferreira, R., & Vilas-Boas, L. (2016). Basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil: A review of its potential use as an antimicrobial agent. *Curr. Bioact. Compd.*, 12(1), 22-30. doi: 10.2174/1573407211666150519114130.
16. Castronuovo, D., Loizzo, M. R., &Celano, R. (2019). Phytochemicals from basil (*Ocimum basilicum* L.): cultivation, analysis, and potential health benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(1), 58-90.
17. Costa, M. M., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Deans, S. G. (2014). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of three species of basil grown in Portugal. *Food Control*, 37, 229-236.

-D-

18. Defraigne J-O. (2005) — Un mécanisme physiopathologique central à l'origine des complications du diabète ? *Rev Med Liege*, , **60**, 472-478.
19. Delattre J, Beaudoux J-L Bonnefont-Rousselot D. (2005), — Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Première édition. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 547 pages.
20. Diane, C. (2018). Le basilic, l'herbe royale. Retrieved from <https://www.femininbio.com/cuisine-recettes/conseils-astuces/basilic-herbe-royale-93450>.
21. Diane, D. (2018). Le basilic, du mythe à la réalité. *Revue Médicale Suisse*, 14(604), 1836-1840.
22. Diane, M. (2018). *L'huile essentielle de basilic: propriétés et utilisations*. Editions Amyris.

-
23. Diane, M. (2018). *Ocimum basilicum*: A review on phytochemistry and pharmacological activities. *Plant Archives*, 18(1), 107-113.
24. Duke JA (1985). *Culinary herbs: A potpourri*. Buffalo, New York: Bonch Magazine Limited.

-E-

25. El Babili F., Bouajila J. (2019). Aromatic and Medicinal Plants: An Overview on Their Conservation and Sustainable Exploitation. In: Lichtfouse E. (eds) *Sustainable Agriculture Reviews 34*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-19800-5_1
26. El-Wakeel, N. E. et al. (2018). The Potential of Basil Plant as Repellent for Pest Control Management. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science*, 68(4), 289–296.)

-F-

27. Fathiazad F., Matlobi A, Khorrami A., Hamedeyazdan S., Soraya H., Hammami M., Maleki-Dizaji N. et Garjani A., 2012. Phytochemical screening and evaluation of cardioprotective activity of ethanolic extract of *Ocimum basilicum* L. (basil) against isoproterenol induced myocardial infarction in rats DARU. *Journal of Pharmaceutical Sciences*,20,87.
28. Fathima, N. N. et al. (2015). Extraction and Characterization of Essential Oil from Basil Leaves (*Ocimum basilicum*) and its Application in Cosmetics. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(2), 354–365.)

-G-

29. Gabbo, F. R., & Lopes, J. D. (2007). *Ocimum* species from traditional cultivation to pharmacological use: a review. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 17(2), 141-173.
30. Giatropoulos, A., Pitarokili, D., Papaioannou, F., Papachristos, D., Koliopoulos, G., &Emmanouel, N. (2020). Repellent and insecticidal efficacy of five essential oils and their major constituents against the common house mosquito, *Culex pipiens*. *Parasitology research*, 119(1), 287-296.
31. Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Plantasmedicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitossecundários. *Quimica Nova*, 30(2), 374-381

-
32. Greche, H., Maiza, K., & Sahli, A. (2007). Composantes chimiques de l'huile essentielle de basilic (*Ocimum basilicum* L.) cultivé en Algérie. *Journal of Essential Oil Research*, 19(5), 444-448.
33. Grieve M. (1971). *modern herbal; the medicinal, culinary, cosmetic and economic properties, cultivation and folklore of herbs, grasses, fungi, shrubs & trees with all their modern scientific uses*. New York: Dover Publications.;87

-H-

34. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
35. Hare J.— Nitroso-redox balance in the cardiovascular system. *N Engl J Med*, 2004, **351**, 2112-2114.
36. Halliwell B, Gutteridge JMC (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.
37. Hozawa A, Jacobs D, Steffes M, et al (2007).—Relationships of circulating carotenoid concentrations with several markers of inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction : the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/ Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study. *Clin Chem* **53**, 1-9.
38. <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-44336-illustrations> .

-K-

39. Kaurinovic B., Popovic M., Vlasisavljevic S et Trivic S., 2011. Antioxidant Capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. Extracts, *Molecules*. 16, 7401-7414.
40. Kothari, S. K., Jain, A. K., & Mehta, N. (2010). Phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity of selected medicinal plants against food borne pathogens. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(4), 1-7.
41. Kwon, Y. (2019). Health Benefits of Basil (*Ocimum Basilicum*) as a Functional Food. *Journal of Medicinal Food*, 22(10), 1075-1087. doi: 10.1089/jmf.2019.0063
42. Kwon, Y. S. (2019). Rosmarinic acid from *Perilla frutescens* var. *acuta*: Its anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial activities. *Food Science and Biotechnology*, 28(4), 1083-1088. doi: 10.1007/s10068-019-00596-5.

-L-

43. Langsjoen PH, Langsjoen AM. (2003). The clinical use of HMG CoA – reductase inhibitors and the associated depletion of coenzyme Q10 - A review of animal and human publications. *Biofactors*, 18, 101-111.
44. Lee C-J., Chen L-G., Chang T-L., Ke W-M., Lo Y-F et W C-C., 2011. The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. *Food Chemistry*, 124, 833–841.
45. Lethicia, A. L., de Carvalho, C. C. C. R., Carvalho, M. G., & Siqueira, J. M. (2022). *Ocimum basilicum* L.: a review on its botany, phytochemistry, pharmacological and food properties. *Journal of Food Science and Technology*, 59(1), 14-25. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05160-w>.
46. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118-126. doi: 10.4103/0973-7847.70902

-M-

47. Marshall, Elaine. (1971). Health and wealth from medicinal aromatic plants. FAO, 2011.
48. Magness, J.R., G.M. Markle, C.C. Compton . Food and feed crops of the United States. Bul. 828 New Jersey Agr. Expt. Sta.
49. Malhotra, S., Srivastava, S., & Chandra, H. (2012). Mosquito larvicidal and biting deterrent activity of basil essential oils from different cultivars. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 28(2), 123-130.
50. Mishra, A., & Dubey, N. K. (2020). Antimicrobial and antioxidant potential of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil in food protection: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 57(9), 3007-3016. doi: 10.1007/s13197-020-04313-9
51. Mohammed, chenni (2016). Etude comparative de la composition chimique de l'activité biologique et l'huile essentielle des feuilles du basilic " *Ocimum basilicum* .L " extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. Thèse de doctorat : université Ahmed Benbella, Département de chimie, 185pages.
52. Muenscher WC, Rice MA (1978). Garden spice and wild pot-herbs. Ithaca, New York: Cornell University Press.
53. Murphy, M.P., Holmgren, A., Larsson, N.G. et al (2022).Unifying concepts in hydrogen peroxide metabolism and signaling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 23, 80–100.

-N-

54. Nakajima K, Nakano T, Tanaka (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis : The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*, 367, 36-47.
55. Nguyen, V. T., Nguyen, N. Q., Thi, N. Q. N., et al. (2021). Studies on chemical, polyphenol content, flavonoid content, and antioxidant activity of sweet basil leaves (*Ocimum basilicum* L.). In : *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. IOP Publishing. p. 012083.

-P-

Patil, R. et al. (2012). *Ocimum basilicum* L. (Holy Basil): A Review of Phytochemicals and Pharmacological Properties. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74(5), 467–476.)

-R-

56. Rajamanickam, Karthika. et al (2017). Phytochemical Analysis , Antioxydant and Antibacteriel Activities of two traditionally used Indian medicinal plants. *Asian Journal of Biology*, 4(5). p.1-11.

-S-

57. Saad A, Virella G, Chassereau Ch, et al (2006).— OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. *J Lipid Res*, 47, 1975-1983.
58. Sies, H., Jones, D.P. (2022) Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol* 23, 166–183.
59. Singh, G. et al. (2017). Basil: A Source of Aroma Compounds and a Popular Culinary and Ornamental Herb. In: *Plant-derived Natural Products*. Springer, Cham.)
60. Shackelford, L., Mentreddy, S. R., & Cedric, S. (2009). Determination of total phenolics, flavonoids and antioxidant and chemopreventive potential of basil (*Ocimum basilicum* L. and *Ocimum tenuiflorum* L.). *International Journal of Cancer Research*, 5(4), 130-143.
61. Shahidi, F, & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*, 18, 757-781. doi: 10.1016/j.jff.2015.02.018.

-T-

62. Teofilović, A., Stamenković, S., Barać, M., & Petrović, J. (2017). Fatty acid composition of basil (*Ocimum* spp.)—A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(10), 3183-3189.
63. Tisserand, R., & Young, R. (2013). *Essential oil safety: a guide for health care professionals* (2nd ed.). Churchill Livingstone/Elsevier.
64. Torre, M. (2016). Basil (*Ocimum basilicum* L.) Crop, Quality and Nutritional Attributes. *Sustainable Agriculture Reviews*, 21, 97-117.
65. Tyagi, A. K., & Malik, A. (2010). Antimicrobial potential and chemical composition of essential oil from *Ocimum basilicum* L. (sweet basil). *Microbiological research*, 165(4), 267-275.

-U-

66. Utispan, K., et al. (2020) "Anticancer activity of the Thai medicinal herb *Clinacanthus nutans* Lindau." *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, vol. 10, no. 3, pp. 243-248. doi: 10.1016/j.jtcme.2019.05.006.

-V-

67. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*;39(1):44-84.
68. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative
69. Vermerius, W., Nicholson, R., 2006. Isolation and Identification of Phenolic Compounds. In: *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, Dordrecht, p. 35-191.
70. Vlase, L. (2014). Polyphenolic profile and antioxidant activity of *Ocimum basilicum* L. ssp. *basilicum* in Romania. *Natural product research*, 28(22), 2111-2114.

-W-

71. Waterman, E., Lockwood, B., & Deutscher, J. (2002). *Cancer statistics, 2002*. CA: a cancer journal for clinicians, 52(1), 23-47.

-X-

72. Xiao, Fan, Xu, Tao, Lu, Baiyi, et al (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1 (1) : 6.

-Z-

73. Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64, 555-55.