



HAL
open science

Propriétés anti-oxydants, anti-inflammatoires et antispasmodiques d'Ocimum basilicum

Aicha Bensaid

► To cite this version:

Aicha Bensaid. Propriétés anti-oxydants, anti-inflammatoires et antispasmodiques d'Ocimum basilicum. Médecine humaine et pathologie. Université de Montpellier, 2022. Français. NNT : 2022UMONG091 . tel-04067124

HAL Id: tel-04067124

<https://theses.hal.science/tel-04067124>

Submitted on 13 Apr 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Sciences des Aliments et Nutrition

École doctorale GAIA, Filière APAB - Agro ressources, Procédés, Aliments, Bioproduits

Unité de recherche 95 QUALISUD

Propriétés anti-oxydants, anti-inflammatoires et antispasmodiques d'*Ocimum basilicum*

Présentée par Aicha BENSaid
Le 02 septembre 2022

Sous la direction de Patrick POUCHERET et Jean Charles ROBINSON

Devant le jury composé de

Sylvie BERCIION, Maître de conférences, HDR, Université des Antilles

Guyène AUORE, Professeur, Université des Antilles

Françoise FONS, Professeur, Université de Montpellier

Patrick POUCHERET, Professeur, Université de Montpellier

Alain MICHEL, Professeur, Université de Montpellier

Jean-Charles ROBINSON, Professeur, Université de Guyane

Rapporteure

Rapporteure

Président du jury

Directeur de thèse

Invité

Invité



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

REMERCIEMENTS

Remerciements

Je tiens à remercier les membres de jury d'avoir acceptée d'évaluer ce travail à Madame **Guylène AURORE**, Professeur, Université des Antilles, Mme **Sylvie Bercion**, Maitre de Conférences, HDR, Université des Antilles et Mme **Françoises FONS**, Professeur, Université de Montpellier

Je remercie le ministère de l'enseignement supérieure et de la recherche scientifique d'Algérie de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail.

Je remercie Monsieur **Dominique PALLET** de m'avoir accueillie dans son UMR Qualisud, pour son aide et soutien de réaliser ce travail, je remercie également Mme **Sabine GALINDO** et **Véronique VIDAL** pour leur accompagnement et leur conseils scientifiques.

Je tiens tous d'abord à remercier mon directeur de thèse Mr **Patrick POUCHERET** de m'avoir accueillie dans son équipe de recherche et de m'avoir permis de réaliser ce travail, pour son encadrement, sa patience sa disponibilité et ces judicieux conseils scientifiques qui ont contribué énormément à mes réflexions au niveau de la recherche.

Je tiens à remercier Monsieur **Alain MICHEL** co-directeur de thèse pour son encadrement.

Je remercie tout particulièrement Madame **Sylvie MOREL** Maitre de Conférence de l'université de Montpellier, pour son encadrement, son soutien, merci pour votre présence, vos encouragements et pour tous nos échanges.

Je voudrais également remercier Monsieur **Jean GIAIMIS** Professeur de l'université de Montpellier, pour sa gentillesse, son accueil, merci pour vos encouragements et tous nos discussions motivantes ainsi que nos échanges scientifiques, merci pour nos pauses « thés et biscuits ».

Tous mes remerciements aux personnels de l'université de Montpellier et toute l'équipe du CIRAD, **Caroline GUZMANE** je te remercie pour tous l'effort, l'aide scientifique et personnelle, merci pour ta gentillesse et ta disponibilité, **Karine Portet** merci pour ta présence, ton soutien dans les moments difficiles et ton aide, merci pour

Tous les moments qu'on a passé ensemble, **Manon VITOU** je te remercie pour ton soutien, ta gentillesse et ta bonne humeur, la bonne ambiance de travail et nos pauses « déjeuner » c'était toujours un plaisir de travaillé avec toi, **Adrien SERVANT** merci pour ton aide technique et scientifique.

Je souhaite également remercies Ma cher collègue, **Audrey** pour tous les bons moments que nous avons partagée ensemble, tes délicieux banana bread.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements pour mes chères amies, **Imane** « la plus sincère rencontre d'amitié, merci pour ta franchise c'était la principale base de notre amitié, merci pour tes encouragements, ton soutien, merci pour tous les moments que nous avons partagés ensemble : joie, tristesse, nos aventures... », **Lindo** « Merci pour ta gentillesse, ta présence, ton soutien, merci pour tous nos bons moments d'aventure de voyages ..., merci pour ta soupe délicieuse... », **Imane** « Merci pour tes encouragements et ta motivation, ton départ a laissé un grand vide mais je n'oublierai jamais les moments heureux (ainsi que et les moins heureux) que nous avons passé ensemble depuis notre rencontre .et je tiens également à remercies mes amis **Ali, Yanis** merci pour tous vos encouragement et pour tous les bons moments que nous avons passé ensemble, **Dr jari** merci pour tes conseils, tes encouragements, et pour nos moments « sportifs du dimanche ».

Un grand merci pour ma mère « tu es partie trop tôt ... » Mon père, mon frère et mes sœurs pour leur amour, soutien, et encouragements, mes remerciements à mes nièces et mes neveux vous me manquez beaucoup ..., je sais que mon absence était difficile pour vous tous.

Les travaux valorisés

Les résultats obtenus de ces travaux ont été valorisés sous forme de deux communications affichées (webinaire) dans des congrès internationaux et une publication sous forme d'article de recherche dans une revue internationale.

Communication webinaires:

BENSAID, A., MOREL, S., MARTIAL, K., VITOU, M., MICHEL, A., POUCHERET, P., ROBINSON, J-C., Evaluation of the antioxidant activity of aqueous extracts from the leaves of *Annona squamosa*, *Ocimum basilicum* and hydroalcoholic extract of *Tapirira guianensis*. *3rd Fruit & Vegetable Processing Symposium 24-25 November 2020 – Web conference*.

BENSAID, A., MOREL, S., MARTIAL, K., VITOU, M., MICHEL, A., POUCHERET, P., ROBINSON, J-C. Evaluation of the antioxidant activity of *Annona squamosa*, *Ocimum basilicum* and *Tapirira guianensis* with a view to modulating the associated inflammatory and algal processes. *Iceps 8 Intervention non médicamenteuses 24 -25 novembre 2020- Web conference*.

Publication :

BENSAID, A., BOUDARD, F., SERVANT, A., MOREL, S., PORTET, K., GUZMAN, C., VITOU, M., BICHON, F., POUCHERET, P. *Differential nutrition-health properties of Ocimum basilicum leaves and stems extracts*. *Foods* 2022, 11, 1699. <https://doi.org/10.3390/foods11121699>

Table des matières

LISTE DES TABLEAUX	11
LISTE DES FIGURES	12
LISTE DES ABREVIATIONS.....	14
INTRODUCTION	18
PREMIERE PARTIE ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	20
CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR <i>OCIMUM BASILICUM</i>.....	21
1 GENERALITE SUR LA FAMILLE DES LAMIACEAE	22
2 <i>OCIMUM BASILICUM</i> L.....	22
2.1 CLASSIFICATION SCIENTIFIQUE.....	22
2.1 NOMS VERNACULAIRES ET SYNONYME	23
3 CARACTERISTIQUES BOTANIQUES.....	23
3.1 APPAREIL VEGETATIF	23
3.2 APPAREIL REPRODUCTEUR.....	24
4 DISTRIBUTION ET CULTURE.....	24
5 UTILISATIONS TRADITIONNELLES	25
5.1 USAGES ALIMENTAIRES ET INDUSTRIELS	25
5.2 USAGES THERAPEUTIQUES	26
5.3 PHYTOCHIMIE D' <i>OCIMUM BASILICUM</i> L	26
6 MACRONUTRIMENT	31
CHAPITRE 2 : LE STRESS OXYDATIF.....	32
1 LES RADICAUX LIBRES.....	33
1.1 DEFINITION	33
2 LES PRINCIPAUX RADICAUX LIBRES.....	33
2.1 LE SUPEROXYDE	33
2.2 LE PEROXYDE D'HYDROGENE.....	33
2.3 LE SINGULET D'OXYGENE	34
2.4 L'HYPOCHLORITE.....	35
2.5 L'OXYDE NITRIQUE.....	35
2.6 LE PEROXYNITRITE	36
2.7 LE RADICAL HYDROXYLE (OH-)	36
3 SOURCES DES RADICAUX LIBRES.....	37
4 FORMATION DES RADICAUX LIBRES.....	37
4.1 LES REACTIONS ENZYMATIQUES	37
4.1.1 <i>Les mitochondries</i>	37
.....	38
4.1.2 <i>NADPH oxydases</i>	38

4.1.3	<i>Les cyclooxygénases</i>	39
4.1.4	<i>Lipoxygénases</i>	40
4.1.5	<i>La xanthine oxydase</i>	41
4.1.6	<i>NO synthases</i>	42
5	LES REACTIONS NON ENZYMATIQUES	42
6	LES DOMMAGES DES RADICAUX LIBRES	42
6.1	L'ADN	42
6.2	LES PROTEINES	43
6.3	LES LIPIDES	43
7	LES SYSTEMES DE DEFENSES CONTRE LE STRESS OXYDANTS	44
7.1	LE SYSTEME ANTIOXYDANT ENZYMATIQUE.....	44
7.1.1	<i>Superoxyde Dismutase</i>	44
7.1.2	<i>Glutathion peroxydase</i>	45
7.1.3	<i>Catalase</i>	45
7.2	LE SYSTEME ANTIOXYDANT NON ENZYMATIQUE.....	45
7.2.1	<i>Le système antioxydant non enzymatique endogène</i>	45
7.2.2	<i>Le système antioxydant non enzymatique exogène</i>	45
8	LES PROPRIETES ANTIOXYDANTES D'OCIMUM BASILICUM L	47
9	STRESS OXYDATIF ET PATHOLOGIES	47
	CHAPITRE 3 : L'INFLAMMATION	48
1	L'INFLAMMATION	49
2	LES CELLULES DE L'INFLAMMATION	49
2.1	LES CELLULES PHAGOCYTAIRES	49
2.2	LES LYMPHOCYTES	50
2.3	LES MASTOCYTES, POLYNUCLEAIRES BASOPHILES ET EOSINOPHILES	51
2.4	LES PLAQUETTES	52
2.5	LES FIBROBLASTES	52
2.6	LES CELLULES ENDOTHELIALES	52
3	LES MEDIEURS DE L'INFLAMMATION	53
3.1	LES CYTOKINES PRO-INFLAMMATOIRES	53
3.1.1	<i>TNF-α</i>	54
3.1.2	<i>Interleukine IL-6</i>	55
3.1.3	<i>Interleukine IL1</i>	55
3.1.4	<i>Interférons IFN</i>	56
3.2	LES CHIMIOKINES	57
3.2.1	<i>CCL2</i>	58
3.3	LES PEPTIDES VASOACTIFS	58
3.4	LES AMINES VASOACTIVES	58
3.5	LES ENZYMES PROTEOLYTIQUES	59
3.6	PROSTAGLANDINE E ₂	59
3.7	LE SYSTEME DU COMPLEMENT	60
4	LES ANTI-INFLAMMATOIRES	61
4.1	LES ANTI-INFLAMMATOIRES NATURELS	61
4.2	LES ANTI-INFLAMMATOIRES STEROÏDIENNES	61
4.3	LES ANTI-INFLAMMATOIRES NON STEROÏDIENNES	61
5	MECANISME DE L'INFLAMMATION	62
6	INFLAMMATION ET PATHOLOGIE	63

7	PROPRIETES ANTI-INFLAMMATOIRE D'OCIMUM BASILICUM.....	63
	CHAPITRE 4 : LE MUSCLE LISSE INTESTINAL.....	65
1	PHYSIOLOGIE DE MUSCLE LISSE INTESTINAL.....	66
1.1	GENERALITE SUR LE MUSCLE LISSE.....	66
2	STRUCTURE DE MUSCLE LISSE.....	66
3	MECANISME DE CONTRACTION ET RELAXATION DU MUSCLE LISSE INTESTINAL	66
3.1.1	Contraction du muscle lisse intestinal.....	66
3.1.2	Relaxation du muscle lisse intestinal.....	67
3.1.3	Contraction de base du muscle lisse intestinal	68
4	REGULATION DE LA SENSIBILITE AU CA²⁺	69
5	REGULATION DU MUSCLE LISSE PAR LES NEURONES.....	69
6	PHYSIOPATHOLOGIE DU MUSCLE LISSE INTESTINAL	70
7	PROPRIETES ANTISPASMODIQUE D'OCIMUM BASILICUM	70
	DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX DE LA THESE.....	72
	INTRODUCTION	73
	MATERIELS ET METHODES	75
1	LE MATERIEL VEGETAL	76
2	PREPARATION DES ECHANTILLONS ET DES EXTRAITS	76
3	ANALYSES CHROMATOGRAPHIQUES DES EXTRAITS DE BASILIC	76
4	EVALUATION DES PROPRIETES ANTIOXYDANTS.....	77
4.1	DOSAGE DU TPC	77
4.2	TEST DPPH.....	77
4.3	TEST ORAC	78
4.4	NO SCAVENGING	78
5	EVALUATION DES PROPRIETES ANTI-INFLAMMATOIRES.....	78
5.1	CULTURE CELLULAIRE	78
5.2	TRAITEMENT ET ACTIVATION DES CELLULES.....	79
5.3	MESURE DE LA VIABILITE CELLULAIRE	79
5.4	DOSAGES DES NITRITES.....	80
5.5	DOSAGE DES INTERLEUKINES 6 (IL-6)	80
5.6	DOSAGE DU TNF-A (TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA)	80
5.7	DOSAGES DU MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN-1 (MCP-1).....	80
5.8	DOSAGES DES PGE ₂	81
6	EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTISPASMODIQUE.....	81
6.1	ANIMAUX.....	81
6.2	PREPARATION DU JEJUNUM DES RATS, MONTAGE	81
6.3	EFFET ANTISPASMODIQUE	82
7	ANALYSE STATISTIQUE.....	82
	RESULTATS	83
1	RENDEMENT D'EXTRACTION	84
2	ANALYSES PHYTOCHIMIQUES DES EXTRAITS DE BASILIC	84
3	TENEUR TOTALE EN POLYPHENOL	90

4	ACTIVITE ANTIOXYDANT DES EXTRAITS D'OCIMUM BASILICUM.....	91
4.1	TEST DPPH.....	91
4.2	TEST ORAC	93
4.3	L'ACTIVITE DE PIEGEAGE DU NO DES EXTRAITS ETHANOLIQUE D'OCIMUM BASILICUM	94
5	ACTIVITE ANTIINFLAMMATOIRE DES EXTRAITS D'OCIMUM BASILICUM.....	95
5.1	EFFET DES EXTRAITS ETHANOLIQUE D' <i>OCIMUM BASILICUM</i> SUR LA VIABILITE CELLULAIRES.....	95
5.2	EFFET DES EXTRAITS ETHANOLIQUE D'OCIMUM BASILICUM SUR LA PRODUCTION DU NO	96
5.3	EFFET DES EXTRAITS ETHANOLIQUE D' <i>OCIMUM BASILICUM</i> SUR LA PRODUCTION D'IL6.....	98
5.4	EFFET DES EXTRAITS ETHANOLIQUE D'OCIMUM BASILICUM SUR LA PRODUCTION DE TNFA.....	100
5.5	EFFET DES EXTRAITS ETHANOLIQUE D' <i>OCIMUM BASILICUM</i> SUR LA PRODUCTION DE MCP 1.....	101
5.6	EFFET DE L'EXTRAITS ETHANOLIQUE DES TIGES D' <i>OCIMUM BASILICUM</i> SUR LA PRODUCTION DE PGE2 102	
6	EFFET ANTISPASMODIQUE DES EXTRAITS AQUEUX D'OCIMUM BASILICUM.....	103
	DISCUSSION.....	107
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	115
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	118

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : COMPOSITION PHYTOCHIMIQUES DE BASILIC (<i>OCIMUM BASILICUM</i>).....	28
TABLEAU 2 : LES PRINCIPALES CYTOKINES ET CHIMIOKINES DE L'INFLAMMATION (GERMOLEC ET AL., 2018).....	53
TABLEAU 3 : FAMILLE DE LIGANDS ET DE RECEPTEURS IL-1 (DINARELLO, 2018).....	56
TABLEAU 4 : RENDEMENT D'EXTRACTION D' <i>OCIMUM BASILICUM</i>	84
TABLEAU 5 : PROFIL DES COMPOSES CHIMIQUES DANS L'EXTRAIT DE FEUILLES D' <i>OCIMUM BASILICUM</i>	87
TABLEAU 6 : PROFIL DES COMPOSES CHIMIQUES DANS L'EXTRAIT DE TIGES D' <i>OCIMUM BASILICUM</i>	88

Liste des figures

FIGURE 1 : FEUILLES D'OCIMUM BASILICUM.....	24
FIGURE 2 : STRUCTURE CHIMIQUE DE COMPOSES PHENOLIQUES DE BASILIC. (TORRES ET AL., 2018)-----	27
FIGURE 3 : PRODUCTION ET DEGRADATION DE PEROXYDE D'HYDROGENE (H ₂ O ₂). (MURPHY AND FRIEDMAN, 2019).....	34
FIGURE 4 : FORMATION MITOCHONDRIALE DES ERO (MANSOURI ET AL., 2018)-----	38
FIGURE 5 : SYNTHÈSE DES PROSTAGLANDINES. (PEEBLES, 2019) -----	40
FIGURE 6 : BIOSYNTHESE DES LEUCOTRIENES (CHRISTIE AND HARWOOD, 2020) -----	41
FIGURE 7 : CONTRACTION DU MUSCLE LISSE ; DANS LES MUSCLES LISSES, LE CALCIUM SE LIE A LA CALMODULINE ET PROVOQUE L'ACTIVATION DE LA CHAÎNE LÈGÈRE DE LA MYOSINE (MLC) (LA KINASE MLCK). CELA PHOSPHORYLE LE MLC, QUI SE LIE ENSUITE A L'ACTINE POUR FORMER DE L'ACTOMYOSINE PHOSPHORYLÉE, PERMETTANT AU CYCLE DE PONT CROISÉ DE DEMARRER. (KUO AND EHRlich, 2015) -----	67
FIGURE 8 : CHROMATOGRAMME DES EXTRAITS DE FEUILLES D'OCIMUM BASILICUM (M-H+). (A) ETHANOLIQUES ET (B) AQUEUX.....	85
FIGURE 9: CHROMATOGRAMME DES EXTRAITS DE TIGES D'OCIMUM BASILICUM (M-H+). (A) ETHANOLIQUES ET (B) AQUEUX.....	86
FIGURE 10: TENEUR TOTALE EN POLYPHENOL DES EXTRAITS D'OCIMUM BASILICUM, Fe : EXTRAITS D'ETHANOLIQUE DES FEUILLES ; Te : EXTRAITS D'ETHANOLIQUE DES TIGES ; Fa : EXTRAITS AQUEUX DES FEUILLES ; Ta : EXtrait AQUEUX DES TIGES LES VALEURS SONT MOYENNES ± SD (N=3) -----	91
FIGURE 11 : ACTIVITE ANTIOXYDANTES DES EXTRAITS D'OCIMUM BASILICUM EVALUE PAR TEST DPPH, A) CONCENTRATION EQUIVALENT TROLOX, B) % D'INHIBITION DE DPPH. Fe : EXTRAITS D'ETHANOLIQUE DES FEUILLES ; Te : EXTRAITS D'ETHANOLIQUE DES TIGES ; Fa : EXTRAITS AQUEUX DES FEUILLES ; Ta : EXtrait AQUEUX DES TIGES LES VALEURS SONT MOYENNES ± SD (N=3) -----	92
FIGURE 12 : ACTIVITE ANTIOXYDANTES DES EXTRAITS D'OCIMUM BASILICUM EVALUE PAR TEST ORAC, Fe : EXTRAITS D'ETHANOLIQUE DES FEUILLES ; Te : EXTRAITS D'ETHANOLIQUE DES TIGES ; Fa : EXTRAITS AQUEUX DES FEUILLES ; Ta : EXtrait AQUEUX DES TIGES LES VALEURS SONT MOYENNES ± SD (N=3) -----	93
FIGURE 13 : EFFET DES EXTRAITS D'OCIMUM BASILICUM SUR LA CAPACITE DE PIEGEAGE DE L'OXYDE NITRIQUE NO A) L'EXtrait ETHANOLIQUE DES FEUILLES ; B) L'EXtrait ETHANOLIQUE DES TIGES. LES VALEURS SONT MOYENNES ± SD (N = 3).....	94
FIGURE 14 : EFFET DES EXTRAITS D'OCIMUM BASILICUM SUR LA VIABILITE CELLULAIRE, A) L'EXtrait ETHANOLIQUE DES FEUILLES ; B) L'EXtrait ETHANOLIQUE DES TIGES. LES VALEURS SONT MOYENNES ± SD (N = 3).....	95
FIGURE 15 : EFFET D'EXtrait ETHANOLIQUE DES FEUILLES D'OCIMUM BASILICUM SUR, A) LA PRODUCTION D'OXYDE NITRIQUE, B) % INHIBITION DE NO. LES VALEURS SONT MOYENNES ± SD (N = 3)-----	97
FIGURE 16 : EFFET D'EXtrait ETHANOLIQUE DES TIGES D'OCIMUM BASILICUM SUR, A) LA PRODUCTION D'OXYDE NITRIQUE, B) % INHIBITION DE NO. LES VALEURS SONT MOYENNES ± SD (N = 3) -----	98
FIGURE 17 : EFFET D'EXtrait ETHANOLIQUE DES FEUILLES D'OCIMUM BASILICUM SUR, A) LA PRODUCTION D'IL6, B) % INHIBITION D'IL6. LES VALEURS SONT MOYENNES ± SD (N = 3)-----	99

FIGURE 18 : EFFET D'EXTRAIT ETHANOLIQUE DES TIGES D'*OCIMUM BASILICUM* SUR, **A**) LA PRODUCTION D'IL6, **B**) % INHIBITION D'IL6. LES VALEURS SONT MOYENNES \pm SD (N = 3)----- 100

FIGURE 19 : EFFET DES EXTRAITS D'*OCIMUM BASILICUM* SUR LA PRODUCTION DU TNFA, **A**) L'EXTRAIT ETHANOLIQUE DES FEUILLES ; **B**) L'EXTRAIT ETHANOLIQUE DES TIGES. LES VALEURS SONT MOYENNES \pm SD (N = 3).-----101

FIGURE 20 : EFFET DES EXTRAITS D'*OCIMUM BASILICUM* SUR LA PRODUCTION DU MCP1, **A**) L'EXTRAIT ETHANOLIQUE DES TIGES ; **B**) L'EXTRAIT ETHANOLIQUE DES FEUILLES. LES VALEURS SONT MOYENNES \pm SD (N = 3).-----102

FIGURE 21 : EFFET D'EXTRAIT ETHANOLIQUE DES TIGES D'*OCIMUM BASILICUM* SUR, **A**) LA PRODUCTION DE PGE2, **B**) % INHIBITION DE PGE2. LES VALEURS SONT MOYENNES \pm SD (N = 3)-----103

FIGURE 22 : EFFET DES EXTRAITS D'*OCIMUM BASILICUM* SUR LES DE JEJUNUM DES RATS STIMULES PAR LE CHLORURE DE BARYUM (BaCl₂) OU LA METACHOLINE. **(A)** LES EXTRAITS AQUEUX DES FEUILLES, **(B)** LES EXTRAITS AQUEUX DES TIGES. LES VALEURS SONT MOYENNES \pm SD (N = 6) -----104

Liste des abréviations

- AA** : acide arachidonique
- ACh** : acétylcholine
- AGPI** : acides gras polyinsaturés
- AINS** : anti-inflammatoires non stéroïdiens
- ANOVA** : analysis of variance
- APPH** : 2,2'-azobis 2-amidinopropane dihydrochloride
- BaCl₂** : chlorure de barium
- CAM** : complexe d'attaque membranaire
- cAMP** : adénosine cyclique monophosphate
- cGMP** : guanosine monophosphate cyclique
- COX** : cyclooxygénases
- Cu/ZnSOD** : superoxyde dismutase cuivre-zinc
- DDPH** : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrésil
- DMSO** : Diméthylsulfoxyde
- ECSOD** : superoxyde dismutase extracellulaire
- ELISA** : enzyme-linked immunosorbent assay
- eNOS** : oxyde nitrique synthase endothéliale
- ERO** : espèces réactives de l'oxygène
- GAE** : acide gallique équivalent
- GSH** : glutathion mitochondrial
- H₂O₂** : peroxyde d'hydrogène
- HOCl/ClO⁻** : hypochlorite
- HPLC** : chromatographie liquide haute performance
- ICC** : cellule interstitielle de Cajal
- IFN** : interférons.
- IL** : interleukines.
- iNOS** : oxyde nitrique synthase inductible
- IP3** : inositol triphosphate
- KDa** : kilodalton

LC-MS : Chromatographie liquide-spectrométrie de masse

LOO[•] : radicaux peroxydes

LPA : acide lysophosphatidique.

LPS : lipopolysaccharide

MAPK : protéines kinases activées par le mitogène

MCPI : chimioattractante monocyttaire1.

MLC : chaîne légère de la myosine

MLCK : chaîne légère de la myosine kinase

MnSOD : superoxyde dismutase de manganèse

MPO : myéloperoxydase

MRC : chaînes respiratoire mitochondrial

mtNOS : synthase mitochondriale

MTS : sel de tétrazolium :3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxyméthoxyphényl)-2-(4-sulfophényl)-2H-tétrazolium

NAD : nicotinamide Adénine Dinucléotide

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate d'hydrogène

NF-κB: nuclear factor-kappa B

NHA : N-hydroxy-L-arginine

NK : cellules tueuses naturelles.

NO : oxyde nitrique.

Nox : NADPH oxydases

O^{2•-} : superoxyde

OH[•] : radical hydroxyle

OMS : Organisation mondiale de la santé

ONOO⁻ : anion peroxydinitrite

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

PGE2 : prostaglandine E2.

Phox : phagocyte oxydase

PK : protéine kinase

PKG : protéine kinase G

PMS : phénazine méthosulfate

RLC : chaîne légère régulatrice
ROO[•]: radical peroxyde
ROOH: radical peroxyde d'hydrogène
RPMI: Roswell Park Memorial Institute medium
SC : système du complément
SCI : syndrome du côlon irritable
SNC : système nerveux central.
SOD : superoxyde Dismutase
TGF- β : facteur de croissance transformant-bêta
TH : helper
TNF- α : facteurs de nécrose tumorale alpha.
TPC : Teneur totale en polyphénol
Treg : Lymphocyte T régulateur
UV : Ultra-violet
XDH : La xanthine déshydrogénase
XO : La xanthine oxydase
XOR : La xanthine oxydoréductase

INTRODUCTION

Introduction

Les différentes parties des plantes médicinales ont de tous temps été utilisées pour le traitement de nombreuses maladies. L'utilisation thérapeutique des plantes a été pratiquée par l'humanité depuis des temps immémoriaux, les différentes propriétés curatives spécifiques et toutes les connaissances de ces plantes ont été identifiées et transmises aux générations suivantes dans toutes les civilisations humaines. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), 75 % de la population mondiale utilisent les herbes pour ses besoins de santé. **(Subramanian et al., 2018)**

Les plantes sont considérées comme des usines chimiques vivantes biosynthétisant de nombreux métabolites secondaires d'intérêt. Ces métabolites sont des constituant chimiques jouant un rôle important dans la production des médicaments pharmaceutiques, ainsi que des remèdes à base de plantes médicinales **(Li et al., 2020)**.

Les plantes aromatiques, alimentaires et médicinales restent encore partout dans le monde sous valorisées par rapport à leur potentiel nutrition-santé. Parmi ces plantes médicinales, le basilic ou *Ocimum basilicum* est une plante aromatique appartenant à la famille des Lamiacées. On le trouve cultivé partout dans le monde. Il est originaire des climats tropicaux et chauds d'Asie, d'Afrique, d'Amérique de sud et de la méditerranée.

Le basilic est largement utilisé en industrie alimentaire comme herbe culinaire aromatique notamment dans les cuisines italienne et indienne entre autres. Il est également utilisé en médecine traditionnelle pour le traitement de différentes maladies notamment l'asthme, la bronchite, la toux, les troubles gastro-intestinaux, les maladies cardiovasculaires ainsi que dans le traitement des nausées, des flatulences, comme agent tonique, vermifuge et fébrifuge. Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles de basilic, les feuilles ainsi que les graines ont des propriétés biologiques des activités antioxydante, antiinflammatoire, anticancérogènes, antimicrobienne et antispasmodique.

Cependant il existe peu de recherche scientifique sur l'évaluation des effets biologiques des tiges de basilic. Sur cette base, la présente étude de thèse a pour objectif principal de caractériser et de comparer les effets santé des deux parties aériennes d'*Ocimum basilicum* : tiges et feuilles, en vue de leur valorisation différentielle à visée nutrition santé.

Après un rappel bibliographique relatif au basilic, nous aborderons les notions fondamentales du stress oxydant et des processus inflammatoires ainsi que de la physiologie des muscles lisses. Nous présenterons ensuite nos travaux de recherche au travers des matériels et méthodes pour la préparation et l'analyse phytochimique et biologique des tiges et des feuilles de basilic. Sur cette base, nous aborderons les résultats obtenus lors de nos expérimentations. Après la description de la phytochimie de nos extraits, nous aborderons les effets anti-oxydants évalués par les méthodes du TPC, du DPPH et de l'ORAC. Le potentiel anti-inflammatoire sera ensuite développé au travers des résultats obtenus sur les principaux marqueurs de l'inflammation sur macrophages stimulés (oxyde nitrique, interleukine-6, Tumor Necrosis Factor alpha, Monocyte chemoattractant protein-1 et prostaglandine E2). Les résultats concernant le potentiel antispasmodique des deux matrices sera présenté à la suite de notre travail sur la contractilité du muscle lisse du jéjunum de rat Wistar.

Nos résultats seront discutés à la lueur de la littérature scientifique pour proposer une conclusion ouvrant sur nos perspectives de recherche.

PREMIERE PARTIE ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : Généralités sur *Ocimum basilicum*

1 Généralité sur la famille des Lamiaceae

La famille des Lamiaceae comprend une grande variété de plantes, ayant des effets biologiques et santé. Parmi les plantes les plus connues de cette famille nous pouvons citer le thym, la menthe, l'origan, le basilic, la sauge, la sarriette (**Bekut et al., 2018**).

La famille des Lamiacées (Labiatae) est la sixième plus grande famille de plantes, avec plus de 200 genres et 7 000 espèces. Les plantes appartenant à cette famille sont largement distribuées dans le monde entier et considérées comme faisant partie des plantes les moins difficiles à cultiver. Associé à cette facilité de culture, leurs propriétés aromatiques et leur intérêt en tant qu'épices en font des végétaux d'intérêt pour les secteurs pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques (**Bekut et al., 2018**).

Les espèces du genre *Ocimum* sont parmi les plantes médicinales historiquement les plus connues pour leurs propriétés antimicrobiennes, immunomodulatrices, antistress, anti-inflammatoires, antiulcéreuses, antidiabétiques, hépatoprotectrices, chimioprotectrices, antihyperlipidémiques, cardioprotectrices, antioxydantes, antitussives, radioprotectrices, améliorantes de la mémoire, antiarthritiques, activité antifertilité, antihypertensive, anticoagulante, anticataracte, vermifuge et antinociceptive (**Mahajan et al., 2013**).

2 *Ocimum basilicum* L

Ocimum basilicum L est une plante médicinale aromatique appartenant à la famille des Lamiacées (**Nadkarni., 2005**) connus sous le nom de (basilic doux) (**Muralidharan et al., 2004**). Parmi les espèces d'*Ocimum* le basilic est la principale culture aromatique dans de nombreux pays (**Hussain et al., 2008**).

Le basilic est appelé « roi des herbes » en raison de sa large utilisation en médecine, parfumerie et dans le domaine pharmaceutique (**Simpson and Conner-Ogorzaly, 1986**) La taxonomie du Basilic est complexe. Cette complexité taxonomique est due à la diversité génétique influencée par la pollinisation croisée et aux facteurs environnementaux (**Paton et al.1999**).

2.1 Classification scientifique

Domaine : Eucaryote

Règne : Plantae

Classe : Magnoliopida
Division : Magnoliophytes
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae Sub-
famille : Nepetoideae
Genre : *Ocimum*
Espèce : basilum. L

2.1 Noms vernaculaires et synonyme

Noms vernaculaires :

Basil, sweet basil, common Basil: Anglais (**jayaweera, 1980**).

Badrooj, Hebak ou Rihan: Arabe (Bilal et al., 2012)

Synonymes :

Nom scientifique : *Ocimum bacilicum*, *Ocimum caryophyllatum* Roxb, *Ocimumn minimum*, *Ocimum pilosum* (**khare, 2007**).

3 Caractéristiques botaniques

3.1 Appareil végétatif

Ocimum basilicum est une plante herbacée de 0,6 à 0,9 m de hauteur d'aspect glabre. Les tiges et les branches sont vertes ou violacées, glabres et ligneuses, les tiges sont quadrangulaires. Les feuilles (**figure 1**) sont simples et opposées-décussées (**jayaweera, 1980**) de 2,5 à 5 cm ou plus de longueur ayant une forme ovée, aiguë, avec des coupures entières, dentées ou lobées. Le pétiole à une longueur de 1,3 à 2,5 cm.



Figure 1 : Feuilles d'*Ocimum basilicum*

3.2 Appareil reproducteur

Le calice à une longueur de 5 mm qui se transforme en feuilles. Les bractées présentent une forme ovée et aigüe et sont plus courtes par rapport au calice. La corolle typiquement bilabée mesure de 8 à 13 mm de couleur blanche, violette ou rose (**Bilal et al., 2012**).

La fleur est composée de cinq sépales, forment deux lèvres une supérieure arrondie et l'autre inférieure avec deux dents centrales et plus longues (**Jayaweera, 1980**).

Les fleurs de petite taille sont aromatiques de couleur blanche, rouge et parfois violette. (**Telci et al., 2006**).

Il y a deux paires d'étamines, le style à une forme fourchue, le fruit est un tétrakène enfermées dans le calice mature (**Tan, 2005**). Les graines sont de très petite taille et noires.

4 Distribution et culture

Ocimum basilicum L est une plante vivace. Elle est originaire d'Asie, d'Afrique, d'Amérique du Sud et de la Méditerranée. Elle est cultivée dans de nombreux pays dans le monde (**Grayer et al, 1996**).

Les pays les plus grands producteurs de basilic sont l'Indonésie (Asie), l'Égypte et le Maroc (Afrique du Nord), ainsi que la France, l'Espagne et la Hongrie (Europe) (**Jadczak et al. 2006**).

Ocimum basilicum est une plante aromatique annuelle dont la germination survient entre 14 à 21 jours après la plantation dans des conditions appropriées. La période de croissance se situe entre 170 et 180 jours, et selon les conditions climatiques de la région, il peut être récolté 2 à 3

fois pendant la saison de croissance. Le produit sec des tiges est récoltable avec un rendement de 1,2 à 2t/ha (poids frais 8–10 t) (Telci et al., 2006).

Des études ont montré que l'utilisation de pot trop petits dans la production de basilic réduit le rendement et sa qualité biochimique (Frażczak et Knaflewski 2009).

La température de culture du basilic joue un rôle important dans la teneur en huile essentielle, elle est plus élevée lorsque les plantes sont cultivées à 25°C par rapport aux plantes cultivées à 15°C (Chang et al., 2005). De même le mode d'irrigation via des arroseurs peut provoquer certaines maladies de la plante et contribuer à une diminution du contenu en huile essentielle (Baczek et al., 2019).

Plusieurs études ont rapporté que la culture du basilic dans des sols contaminés par des métaux toxiques avait des effets positifs sur la croissance du basilic et la production de composés bioactifs (Korkmaz et al. 2018 ; Padash et al., 2019)

La promotion de l'état de stress des métaux, de l'aluminium, du plomb et du cadmium chez *O. basilicum* entraîne une réduction de la masse de matière sèche et une augmentation de la synthèse des composés phénoliques (do Prado et al. 2022).

5 Utilisations traditionnelles

Le basilic a été utilisé comme plante médicinale et aromatique dans différents domaines notamment dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique ainsi que dans les médecines traditionnelles comme source de composés phénoliques (De Masi et al., 2006).

5.1 Usages alimentaires et industriels

Le basilic étant une herbe aromatique dont les feuilles sont connues pour leur utilisation culinaire notamment dans les cultures Italienne et Indienne. Il est utilisé à l'état frais, sec ou bien transformé. Les extraits des composés aromatiques sont utilisés dans la production des arômes naturels ainsi que dans les produits cosmétiques (John. Michael, 2001).

L'utilisation de cette herbe est largement répandue dans l'industrie alimentaire grâce à sa richesse en goût et sa saveur épicée (chanz et al., 2009). *Ocimum basilicum* est très utilisé par les industries pharmaceutiques et cosmétiques en raison de sa richesse en acide rosmarinique, en acide caféïque et du fait de leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes et antivirales.

5.2 Usages thérapeutiques

Le basilic est connu dans plusieurs pays dans le domaine de la médecine traditionnelle. Les feuilles sont utilisées comme toniques et vermifuges. La consommation de tisane de basilic chaude est utilisée comme traitement des nausées, des flatulences et de la dysenterie. L'huile de basilic est bénéfique pour soulager la fatigue mentale, le froid, les spasmes, la rhinite. Il est aussi connu comme traitement de premiers soins contre les morsures de serpent et les piqûres de guêpe (Bilal et al., 2012; Ismail, 2008).

Le basilic est utilisé pour le traitement de certains troubles liés aux voies respiratoires, y compris l'asthme, la bronchite, la toux, les troubles gastro-intestinaux mais également les maladies cardiovasculaires, les troubles neurocognitifs et les troubles métaboliques (Aminian et al., 2022). Les fleurs et les feuilles d'*O. basilicum* sont consommées sous forme d'infusion, de sirop, de décoction comme agent sudorifique, stimulant, carminatif, diurétique et fébrifuge, et sont fréquemment suggérées pour la bronchite et la toux (Vieira et Simon 2000).

L'extrait de feuilles a été utilisé dans le traitement des plaies, de l'acné et du vitiligo. De plus, le basilic a été utilisé traditionnellement pour traiter des problèmes de santé tels : anxiété, piqûres, fortes douleurs, grippe, pyrexie, maladies infectieuses, maux de tête, toux, constipation, verrues, vers et dysfonctionnement rénal (Antonescu et al. 2021). En outre, les feuilles et les parties fleuries d'*O. basilicum* sont utilisées comme agents antispasmodiques, aromatiques, carminatifs, digestifs, galactogogues, stomachiques et toniques en médecine traditionnelle (Adigüzel et al. 2005).

Les polysaccharides de basilic ont été largement utilisés pour le traitement des maladies cancéreuses dans la médecine traditionnelle chinoise (Dong et al., 2013).

5.3 Phytochimie d'*Ocimum basilicum* L

Le basilic est connu pour sa richesse en composé bioactifs, notamment des phénols, des flavonoïdes et des huiles essentielles (Nadeem et al., 2019).

Les composés phénoliques prédominants trouvés dans le basilic comprennent l'acide chicorique, l'acide rosmarinique, l'acide caféique et l'eugénol (figure2).

Ces composés possèdent une large gamme d'applications sanitaires et commerciales (Jayasinghe et al., 2003).

L'acide rosmarinique s'est avéré être le principal composé phénolique, mais l'acide chicorique peut également apparaître en grande quantité selon les cultivars (Zgórka and Głowniak, 2001).

Le carvacol est un phénol monoterpénoïde, principe actif présent dans les feuilles d'*Ocimum basilicum*. Il possède une activité antioxydante d'intérêt ainsi que des propriétés antimicrobiennes contre les microorganismes testés comprenant notamment : *Candida albicans*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter johnsonii*, *Bacillus* sp., *Brevundimonas diminuta*, *Brucella* sp. (Adebolu and Oladimeji, 2005).

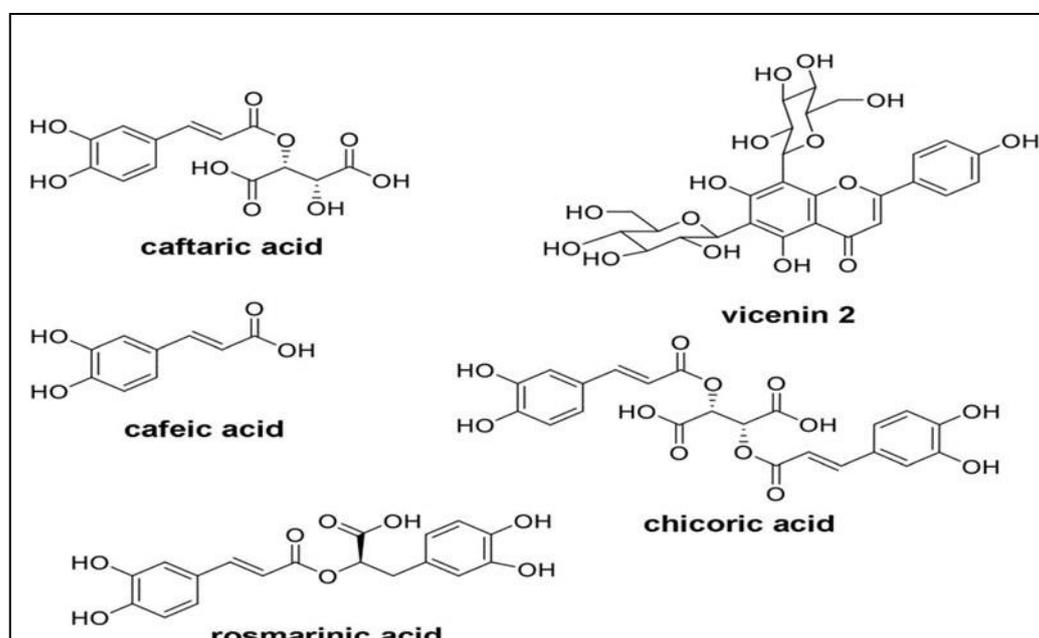


Figure 2 : structure chimique de composés phénoliques de Basilic. (Torres et al., 2018)

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires et des composés naturels d'origine végétale présents de manière omniprésente dans de nombreux fruits et légumes, ainsi que dans les boissons d'origine végétale (par exemple thé, vin) (Siwak et al., 2013).

De nombreuses études suggèrent que les flavonoïdes possèdent un pouvoir antioxydant et sont capables de piéger les radicaux libres tels que le radical hydroxyle, l'anion superoxyde, l'oxyde nitrique, les peroxydes, le peroxyde nitrite et l'hypochlorite (Dugas et al., 2000 ; Firuzi et al., 2010). La quercétine et la rutine sont les flavonoïdes les plus courants présents dans le basilic doux (Ghasemzadeh et al., 2016). Ces deux composés flavonoïdes présentent des bienfaits

thérapeutiques. La rutine s'est avérée avoir des activités anti-inflammatoires, anticancérigènes et cytoprotectrices, tandis que la quercétine présenterait un intérêt dans les maladies neurodégénératives et le cancer (**Ibrahim et al., 2020**).

En effet à des concentrations peu élevées il a été démontré que la quercétine favorise la prolifération cellulaire, augmente la teneur en thiol et la capacité antioxydante totale. Elle diminue également la production de peroxyde intracellulaire, tandis qu'à des concentrations plus élevées (> 50 µM), des effets indésirables ont été observés. (**Robaszkiewicz et al., 2007**).

La composition chimique des huiles essentielles d'*O. basilicum* comprend le méthyl chavicol (estragole), le cinéole, l'eugénole, le méthyl eugénole, l'élémicine, la myristicine, le linalol, l'acide ursolique et le méthyl cinnamate. Des monoterpènes (ocimène, géraniol et camphre), des sesquiterpènes (bisabolène et caryophyllène) et des phénylpropanoïdes (méthyl cinnamate et méthyl eugénole) sont présents en quantités variables et influencent fortement la saveur de la plante (**Senthooraja et al. 2021**).

Dans le basilic le linalol est le principal monoterpène. L'eugénole et le méthyl chavicol (également appelé estragol) représentent les principaux phénylpropanoïdes qui caractérisent le goût et l'arôme (**Nitz and Schnitzler, 2004**).

De nombreuses études ont rapporté la présence de différents métabolites secondaires tels que des acides phénoliques, des flavonoïdes, des phénylpropanoïdes, des alcaloïdes, des saponines et des dérivés stéroïdes. (**Vlase et al., 2014**) (**Tableau 1**) (**Chang et al., 2005**).

Tableau 1 : Composition phytochimiques de basilic (*Ocimum basilicum*)

Type de composés	Les composés chimique	Ref
Acides phénoliques	Acide rosmarinique	(Casanova et al., 2016; Fathiazad et al., 2012; Kiferle et al., 2011; Lee and Scagel, 2009; Mousavi et al., 2020a; Taulavuori et al., 2016; Vlase et al., 2014a; Zgórka and Głowniak, 2001).
	Acide férulique.	(Mousavi et al., 2020a; Rezzoug et al., 2019; Sestili et al., 2018; Vlase et al., 2014b; Zgórka and Głowniak, 2001).
	Acide caféique.	

	<p>Acide protocatéchique. Acide p-hydroxybenzoïque. Acide gentisique.</p> <p>Acide vanillique</p> <p>Acide chlorogénique</p> <p>Acide p-coumarique</p> <p>Acide cinnamique.</p> <p>Acide gallique.</p> <p>Acide 3,4-dihydroxy benzoïque. Acide 4-hydroxy benzoïque. Acide ellagique.</p> <p>Acide chicorique.</p> <p>Acide Salvianolique.</p> <p>Acide caftarique.</p> <p>Acide lithospermique.</p>	<p>(Dong et al., 2013 ; Jayasinghe et al., 2003; Kadan et al., 2016; Kiferle et al., 2011; Kwee and Niemeyer, 2011; Mousavi et al., 2020b; Patel et al., 2019; Rezzoug et al., 2019; Vlase et al., 2014b; Zgórka and Głowniak, 2001).</p> <p>(Zgórka and Głowniak, 2001).</p> <p>(Zgórka et Głowniak 2001 ; Rezzoug et al. 2019)</p> <p>(Jayasinghe et al., 2003 ; Rezzoug et al., 2019 ; Vlase et al., 2014a).</p> <p>(Rezzoug et al., 2019 ; Vlase et al., 2014b).</p> <p>(Jayasinghe et al., 2003 ; Kadan et al., 2016).</p> <p>(Ironi et al., 2016 ; Rezzoug et al., 2019)</p> <p>(Rezzoug et al., 2019)</p> <p>(Kwee et Niemeyer 2011; Casanova et al. 2016; Antora et Salleh 2017; Khoza et al. 2016).</p> <p>(Dong et al., 2013)</p> <p>(Khoza et al., 2016; Vlase et al., 2014a)</p> <p>(Barros et al., 2013)</p>
Flavonoïdes	<p>Rutine.</p> <p>Apigénine.</p> <p>Quercétine</p>	<p>(Jayasinghe et al., 2003; Mousavi et al., 2020b; Rezzoug et al., 2019)</p> <p>(Mousavi et al., 2020b)</p> <p>(Rezzoug et al., 2019; Vlase et al., 2014b)</p>

	Quercitrine Isoquercétine. Lutéoline. Épicatéchine Dihydrokaempférol-3-O-glucoside Dihydroxykaempniférol-glycoside Ester de caféoyle Catéchine. Dérivés de catéchol Naringine	(Ironi et al., 2016; Vlase et al., 2014a) (Mousavi et al., 2020b; Vlase et al., 2014a) (Jayasinghe et al., 2003; Vlase et al., 2014a) (Rezzoug et al., 2019) (Jayasinghe et al., 2003)
Terpenoïde	Eucalypto, Estragole Linalol Acide carnosique Basilol Ocimol	(Mousavi et al., 2020b) (Mousavi et al., 2020b; Tognolini et al., 2006). (Jayasinghe et al., 2003) (Fathiazad et al., 2012)
Phénolpropanoïdes	Eugénol Méthyl eugénol Chavicol	(Tognolini et al., 2006)

Rezzoug et al. (2019) ont trouvé que l'extrait éthanolique des feuilles d'*Ocimum basilicum* contient de nombreux composés phénoliques en concentrations élevées : y compris la rutine (476,28 µg / g), l'épicatéchine (225,01 µg / g) et l'acide vanillique (138,24 µg / g). D'autres composés sont présents en faibles concentrations : la quercétine (0,36 µg / g) et l'acide caféique (6,48 µg / g).

6 Macronutriments

Selon (**Khan et al, 2011**) le basilic a des valeurs macro et micro nutritionnelles modérées, notamment en protéines (3,15 g/100 g), en lipides (0,64 g/100 g), en énergie (23 Kcal), en vitamine C (18 mg/100 g), en vitamine E (0,80 mg/100 g), vitamine A (5275 UI), vitamine K (414,8 mg /100g), Calcium (177 mg/100 g), Fer (3,17 mg/100g), Potassium (295 mg/100 g), Magnésium (64 mg /100 g) et sodium (4 mg/100 g) (**Khan et al, 2011**)

CHAPITRE 2 : Le stress oxydatif

1 Les radicaux libres

En 1956 Harman a présenté le phénomène des radicaux libres comme une boîte de maux qui peuvent causer des dommages cellulaires tel que la mutagénèse, le cancer, et le vieillissement biologique.

1.1 Définition

Un radical libre est une molécule capable d'existence indépendante qui contient un électron non apparié dans une orbitale atomique. De nombreux radicaux sont instables et hautement réactifs. Ils peuvent soit donner un électron à d'autres molécules, soit accepter un électron d'autres molécules, se comportant donc comme des oxydants ou des réducteurs (**Cheeseman and Slater, 1993**).

2 Les principaux radicaux libres

Les radicaux libres les plus importants dans de nombreuses pathologies sont le radical hydroxyle, les anions superoxydes, le peroxyde d'hydrogène, le singulet d'oxygène, l'hypochlorite, l'oxyde nitrique et le radical peroxydinitrite (**Young and Woodside, 2001**).

2.1 Le superoxyde

L'anion superoxyde est formé par la réduction de l'oxygène. Ce processus se fait par l'intervention d'enzymes telles que la NADPH oxydase et la xanthine oxydase ou par voie non enzymatique par les composés redox réactifs tels que le composé semi-ubiquinone de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale (**Droge, 2002**).

Le superoxyde existe dans les tissus biologiques sous forme non radicalaire en raison de leur conversion non enzymatique en peroxyde d'hydrogène et en oxygène singulet (**STEINBECK et al, 1993**).

2.2 Le peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est une espèce réactive de l'oxygène (ERO) qui peut endommager, par oxydation, les lipides, les protéines et les acides nucléiques, directement ou

Indirectement, par la formation de radicaux hydroxyles (OH^\cdot) et la propagation en aval des ERO supplémentaires (Young and Woodside, 2001).

Le peroxyde d'hydrogène est capable de se convertir en radical hydroxyle en présence des métaux de transition telles que les ions de fer ou de cuivre (Chance et al, 1979 ; Droge, 2002). (Figure 3).

La formation du H_2O_2 endogène est liée aux réactions enzymatiques cellulaires ou à la dismutation spontanée du superoxyde (O_2^-). Le peroxyde d'hydrogène a la capacité de traverser librement les membranes cellulaires, ce que le superoxyde ne peut généralement pas faire, ce qui pourrait endommager directement les protéines et les enzymes contenant des groupes thiols réactifs. (Young and Woodside, 2001)

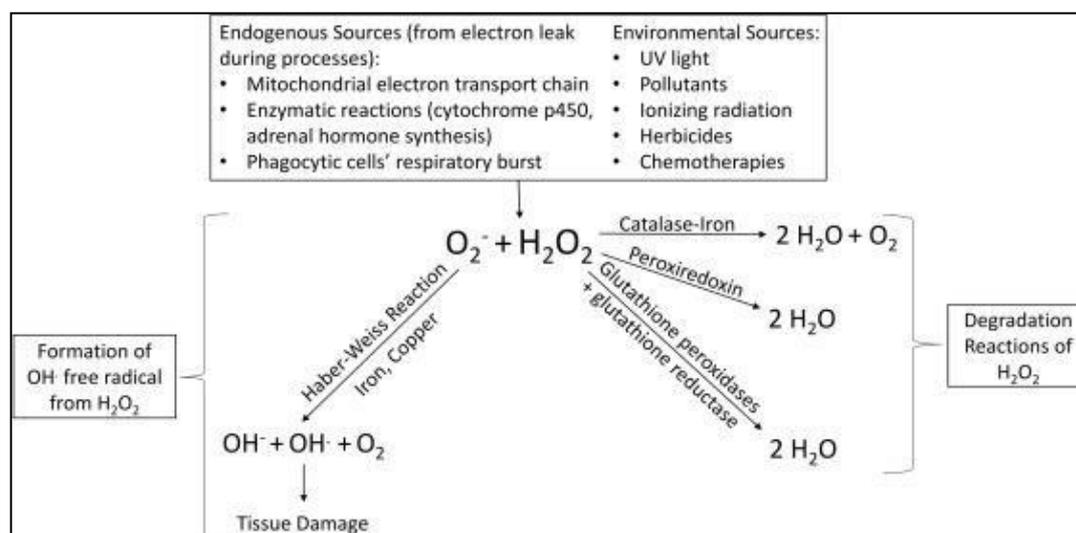


Figure 3 : Production et dégradation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). (Murphy and Friedman, 2019).

Le peroxyde d'hydrogène a été utilisé depuis longtemps comme un agent désinfectant contre les bactéries, levures et les spores bactériennes in vitro. Il est inactivé in vivo par la catalase qui le décompose en hydrogène et en eau (Akuji and Chambers, 2017).

2.3 Le singulet d'oxygène

L'oxygène singulet (dioxidene ou dioxygène) est une molécule chimique inorganique dans un état excité instable de formule chimique : $^1\text{O}_2$ ($a^1\Delta_g$, O_2^*) (Tiwari, 2001).

L'oxygène singulet joue un rôle dans de nombreux risques photochimiques naturel et photo-biologiques (Alberti and Orfanopoulos, 2010) tels que la photodégradation et les processus

de vieillissement, y compris dans la photocarcinogénèse. Les réactions de photosensibilisation d'O₂ singulet sont associées à des applications importantes dans plusieurs domaines, notamment la synthèse organique, les procédés de blanchiment et, surtout, la thérapie photodynamique du cancer (**Schweitzer and Schmidt, 2003**).

2.4 L'hypochlorite

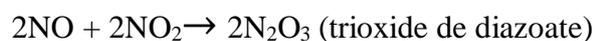
L'hypochlorite (HClO/CIO⁻), un oxydant hautement réactif, est produit pendant les réactions respiratoire des neutrophiles activés au moyen de l'action catalytique de l'enzyme hème myéloperoxydase (MPO) convertissant le chlorure et le peroxyde d'hydrogène en acide hypochloreux et en eau (**Winterbourn, 2002**).

L'hypochlorite jouent un rôle important dans les mécanismes de défense de l'hôte notamment contre les agents pathogènes envahissants, contribuant aux réactions d'oxydo-réduction et aux réactions de chloration (**Winterbourn and Kettle, 2000**). Il peut également induire des lésions tissulaires au niveau des sites d'inflammation (**Winterbourn and Kettle, 2000**). Les protéines thiols sont oxydées dans les cellules exposées à l'hypochlorite (**Winterbourn, 2002**).

La production des intermédiaires réactifs d'halogénéation par les cellules du système immunitaire activées au cours d'une inflammation chronique induit la modification des acides nucléiques. Par exemple il a été démontré que l'acide hypochloreux dérivé des leucocytes jouait un rôle important dans les dommages à l'ADN nucléaire qui peuvent augmenter le risque de cancer. (**Kawai et al., 2004**).

2.5 L'oxyde nitrique

Le monoxyde d'azote est une molécule instable en présence d'oxygène. Elle s'auto-oxyde rapidement et spontanément pour donner une variété d'oxydes d'azote.



$2\text{N}_2\text{O}_3 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{NO}_2^- (\text{nitrite}) + 4\text{H}^+$ (**Robbins and Grisham, 1997**).

Le NO produit par la NO synthase endothéliale (eNOS) est un puissant régulateur de la consommation d' O_2 mitochondrial des cardiomyocytes dans le cœur humain normal et défaillant (**Loke et al., 1999; Ramachandran et al., 2002**).

La stimulation de la NO synthase inductible (iNOS) par exposition à des endotoxines bactériennes) peut inhiber la consommation de l' O_2 myocardique (**Dai et al., 2001**). L'oxyde nitrique produit par la NO synthase mitochondriale (mtNOS) a été suggéré comme un ayant une action de modulation du métabolisme (**GIULIVI, 1998**) et de la production de radicaux oxygène (**Sarkela et al., 2001**).

2.6 Le peroxy nitrite

L'anion peroxy nitrite (ONOO^-) est une espèce oxydante à courte durée de vie qui est produite par la réaction des radicaux oxyde nitrique (NO^\bullet) et superoxyde (O_2^-)

(**Radi R et al, 2001**). Les sites de formation des peroxy nitrites sont supposés être spatialement associés aux sources de superoxyde (telles que les NAD(P)H oxydases de la membrane plasmique ou les complexes respiratoires mitochondriaux) (**Alvarez et al., 2004**).

L'anion peroxy nitrite est formé par la réaction contrôlée par diffusion ($k_2 \sim 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) entre le radical anion superoxyde (O_2^-) et l'oxyde nitrique (NO^\bullet) lors d'un déséquilibre oxydatif et nitrosatif (**Pacher et al., 2007 ; Szabó et al., 2007**).

Le peroxy nitrite est un oxydant à un et deux électrons, il est également un agent nitrant et nitrosant et aussi un nucléophile puissant (**Massari et al., 2008**).

2.7 Le radical hydroxyle (OH^\bullet)

Le radical hydroxyle (OH^\bullet), est un type des ERO généré par la réaction de Fenton, qui peut conduire à la peroxydation lipidique. (OH^\bullet) réagit avec les acides gras insaturés et produit un radical alkyle. Ce dernier peut former un radical peroxyde (EROO) en réagissant avec l'oxygène moléculaire. Ensuite EROO reçoit de l'hydrogène d'un autre acide gras pour produire un hydroperoxyde lipidique (ROOH) et un second radical alkyle, cela déclenche un cycle de peroxydation lipidique (**Sun et al., 2018**).

3 Sources des radicaux libres

Il existe deux sources des espèces réactives de l'oxygène : (1) les sources externes au corps humain telles que l'exposition aux rayons X, à l'ozone, au tabagisme, aux polluants atmosphériques et aux produits chimiques industriels et (2) des sources internes au corps humain telles que les processus métaboliques (**Bagchi and Puri, 1998**) y compris le métabolisme aérobie contrôlé par la respiration mitochondriale et cellulaire (macrophages alvéolaires et neutrophiles activés) (**Roche et al., 2011; Stevenson et al., 2006**)

4 Formation des radicaux libres

La formation des ERO peut se produire dans les cellules de deux manières : des réactions enzymatiques et non enzymatiques.

4.1 Les réactions enzymatiques

Il existe plusieurs voies enzymatiques de formation des espèces réactifs de l'oxygène y compris la chaîne respiratoire de la chaîne mitochondriale : NADPH oxydases, la cyclooxygénase 2 (catalyse de l'acide arachidonique) ; la xanthine oxydase. (**Valko et al., 2007**).

4.1.1 Les mitochondries

Les mitochondries sont le site principal de la formation des ERO dans la cellule (**Kotiadis et al., 2014**) (**figure 4**). Le dysfonctionnement mitochondrial est déclenché par plusieurs facteurs. Il comprend le dysfonctionnement de la chaîne respiratoire et le stress oxydatif, la réduction de la production d'ATP, la dérégulation du calcium, l'ouverture des pores de transition de la perméabilité mitochondriale, la perturbation de la dynamique mitochondriale et la clairance mitochondriale dérégulée. (**Schapira, 2008**).

La plupart des électrons donnés aux MRC (chaines respiratoire mitochondrial) migrent vers le cytochrome c oxydase, où ils réagissent avec les protons et l'oxygène pour former de l'eau. Certains de ces électrons réagissent directement avec l'oxygène pour former le radical anion superoxyde (O_2^-), qui conduit à la formation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Par la suite, le H_2O_2 peut réagir avec le fer ferreux (Fe^{2+}) pour former un radical hydroxyle (OH^\cdot). Les mitochondries contiennent plusieurs enzymes antioxydants qui permet d'éliminer ces ROS. (**Mansouri et al., 2018**).

Les métaux de transition (fer, cuivre) peuvent catalyser la formation de radicaux libres hydroxyles (OH^\bullet), d'hydroxyde (OH^-) et d'oxygène (O_2) à partir de O_2^- et H_2O_2 par la réaction de Haber (**Murphy and Friedman, 2019**).

La manganèse superoxyde dismutase permet la dismutation spontanée de l' O_2^- en oxygène et H_2O_2 , qui est ensuite détoxifié en eau par la glutathion mitochondrial (GSH) peroxydase et les peroxiredoxines. (**Cox et al., 2009**).

L'oxyde nitrique (NO) librement diffusible produit par la NO synthase inductible (iNOS) ou la NO synthase endothéliale (eNOS) peut traverser les membranes mitochondriales pour réagir avec le superoxyde et former du peroxynitrite dans les mitochondries (**Choumar et al., 2011**)

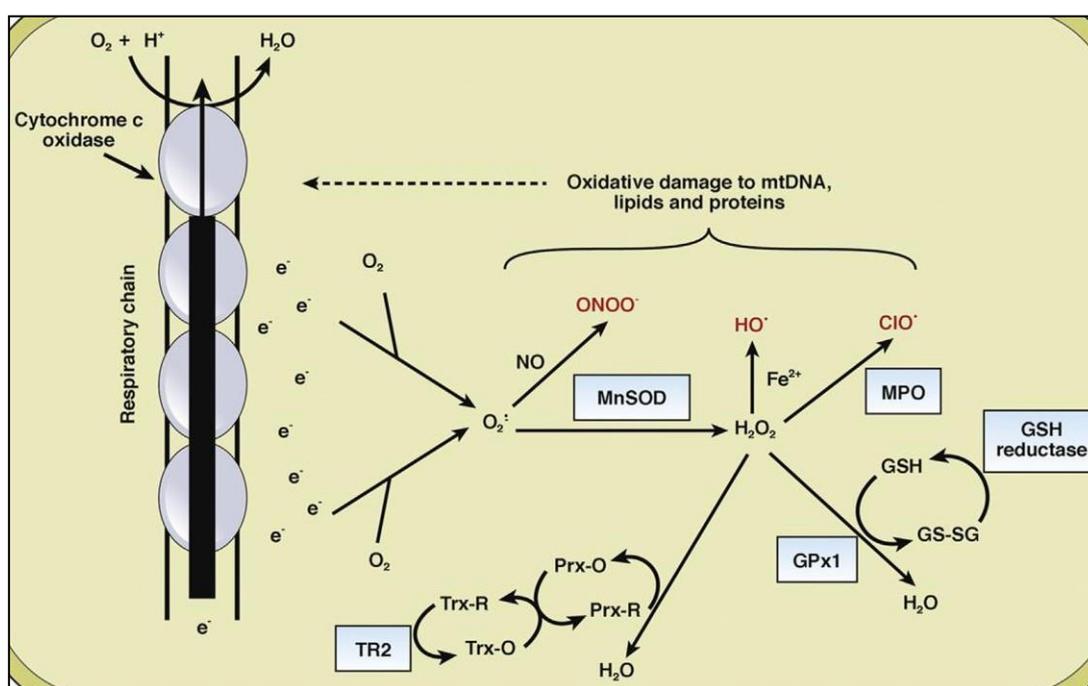


Figure 4 : Formation mitochondriale des ERO (**Mansouri et al., 2018**)

4.1.2 NADPH oxydases

Les NADPH oxydases sont des hémoprotéines transmembranaires et des transporteurs d'électrons. Leur fonction est de catalyser la réaction de réduction de l'oxygène moléculaire en

anion superoxyde O_2^- , qui favorise par la suite la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO), oxydantes et toxiques (**Morel, 2007**)



La structure de la NADPH oxydase classique est constituée de cinq sous-unités : p67phox (« phox » signifie phagocyte oxydase), p47phox, p40phox, p22phox et la sous-unité catalytique gp91phox (**Vignais, 2002**). Chez l'homme on trouve sept isoenzymes de NADPH oxydases (Nox) : Nox1, Nox2 Nox3, Nox4 et Nox5, ainsi que les Duox1 et 2, chacun provenant d'un gène spécifique ayant évolué à partir d'un ancêtre commun (**Kawahara et al., 2007**).

Les mécanismes de régulation des NADPH oxydases Nox sont intégrés et concertés, et se situent à deux niveaux cellulaire et moléculaire. (**Nguyen et al., 2015**)

Par conséquent la fonction essentielle des enzymes Nox est la génération de ROS qui participent à l'induction des gènes de défense de l'hôte, la phosphorylation des kinases, l'activation des facteurs de transcription et la mobilisation des systèmes de transport d'ions. (**Touyz and Briones, 2011**).

4.1.3 Les cyclooxygénases

Les cyclooxygénases (COX) sont des enzymes dont le rôle est de catalyser l'étape initiale du métabolisme de l'acide arachidonique et de la production de prostaglandines. On distingue deux isoenzymes COX-1 et COX-2. La COX-1 est exprimée de manière constitutive dans tout le corps. Elle joue un rôle essentiel dans les processus homéostatiques tels que l'agrégation plaquettaire, la protection gastro-intestinale et la fonction rénale. Tandis que la COX-2 est exprimée principalement dans les cellules inflammatoires et impliquée dans la synthèse des prostaglandines médiant des processus pathologiques tels que l'inflammation, la douleur, la fièvre et la carcinogénèse (**Gajraj, 2003**).

La voie COX catalyse une réaction cyclooxygénase initiale conduisant à l'insertion de deux molécules d'oxygène dans l'acide arachidonique pour générer de la prostaglandine PGG₂, suivie d'une réaction d'endo peroxydase réduisant le PGG₂ à PGH, L'HGP₂ est le précurseur du DPI₂, PGE₂, PGF₂ α , IGP₂, et le thromboxane A₂ (TXA₂) qui sont générés par des enzymes et des isomérases spécifiques aux tissus. (Figure 5) (**Peebles, 2019**).

La COX-2 favorise la signalisation qui régule la croissance et la différenciation ou bien module la réponse inflammatoire à une infection ou à une blessure. (**Rouzer and Marnett, 2020**).

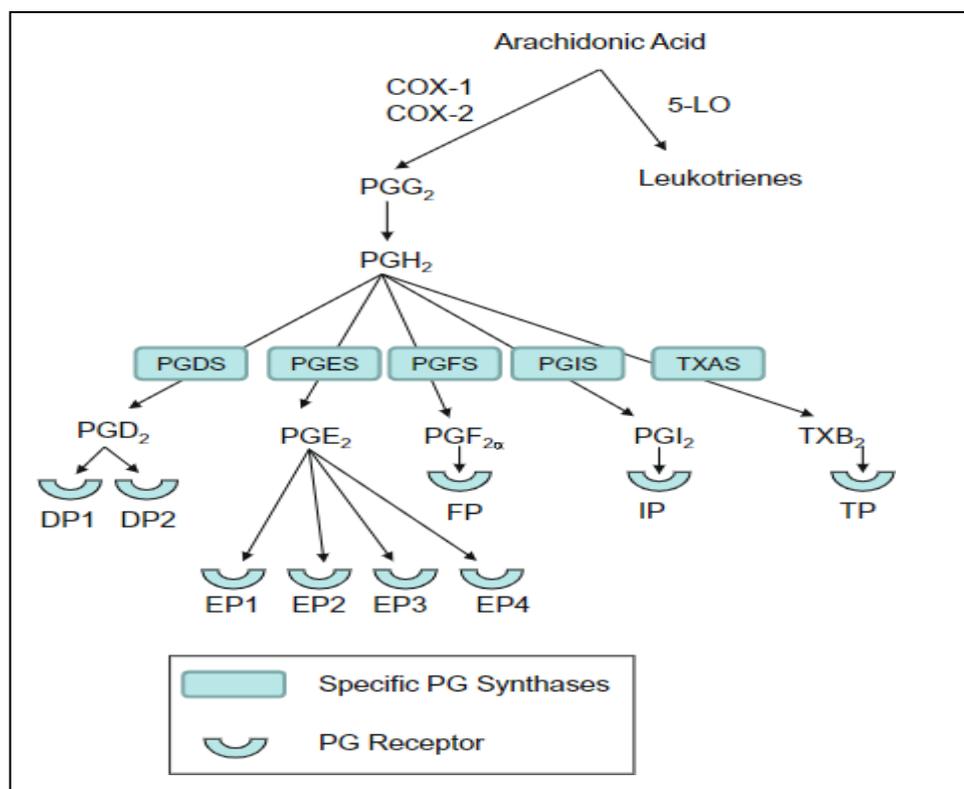


Figure 5 : Synthèse des prostaglandines. (Peebles, 2019).

4.1.4 Lipoxygénases

Les lipoxygénases sont un ensemble d'enzymes impliquées dans la synthèse d'une large gamme de dérivés d'acides gras polyinsaturés (AGPI). Ces produits comprennent les acides hydroxyeicosatétraénoïques (HETE), lipoxines et les hepoxilines, pour lesquels l'acide arachidonique (AA) est le point de départ de chacun d'eux (Dyall, 2015).

Les lipoxygénases se sont avérées capables de modifier les lipides des membranes biologiques et des lipoprotéines pouvant ainsi en altérer les propriétés physiques et biologiques (Aldrovandi et al., 2018). En outre, les lipoxygénases participent également à l'homéostasie de l'oxydoréduction cellulaire qui influencent fortement la survie des cellules, ainsi que la transcription par le biais de facteurs de transcription sensibles à l'oxydoréduction (Kuhn et al., 2015).

Les lipoxygénases peuvent catalyser trois types de réactions différentes (dioxygénation des lipides pour donner des hydroperoxydes; hydroperoxydation de ces derniers en lipides

cétogène, formation de leucotriènes époxy via la réaction de leucotriène synthase) en raison de leur nature multifonctionnelle. Lipoxygénase-5 est l'enzyme clé responsable de la formation des leucotriènes, cette formation se fait en étape de réaction la formation de leucotriènes.

La première étape est une dioxygénation de C5 pour créer, dans le cas de l'ARA, 5 S-hydroperoxy-6t,8 c,11 c,14 c-eicosatétraénoïque (5-HPETE). Pour la deuxième étape, deux protéines accessoires sont nécessaires. Il s'agit de la protéine activatrice de la 5-lipoxygénase (FLAP) et de la protéine de type coactosine (CLP). À l'aide de ces deux protéines, le 5-LOX convertit le 5-HPETE en acide 5, 6-époxy-7t,9 t,11 c,14 c-eicosatétraénoïque (5-HETE) ou leucotrièneA4 (LTA₄) (**Christie and Harwood, 2020**).

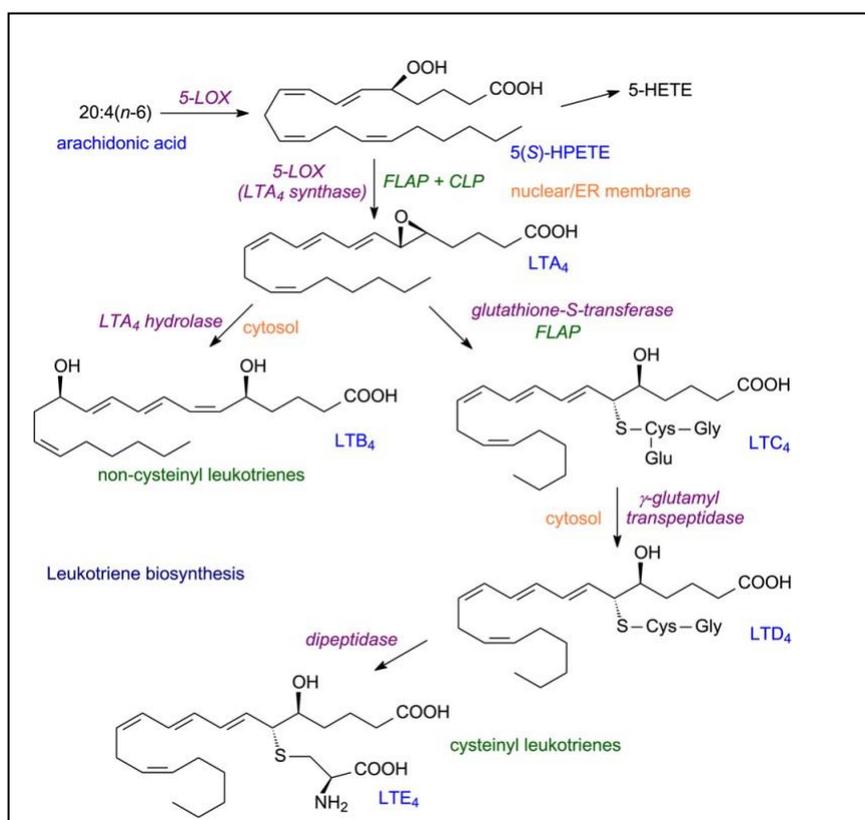


Figure 6 : Biosynthèse des leucotriènes (Christie and Harwood, 2020).

4.1.5 La xanthine oxydase

La xanthine oxydoréductase (XOR) est un nom couramment utilisé pour englober deux formes interconvertibles de la même enzyme : la déshydrogénase (XDH) et l'oxydase (XO) (**Pacher et al., 2006**). La xanthine oxydase (XO) et la xanthine déshydrogénase (XDH) sont impliquées

dans les deux dernières étapes du catabolisme de purines. Plus précisément, elles catalysent l'oxydation de l'hypoxanthine à la xanthine puis à l'acide urique. La XDH transfère deux électrons générés lors de l'oxydation du substrat dans chaque étape de la réaction à une molécule de NAD^+ , ensuite la XO transfère les électrons aux molécules d'oxygène pour former soit du peroxyde d'hydrogène, soit de l'anion superoxyde. **(Luna et al., 2019).**

4.1.6 NO synthases

Les NO synthases (NOS ; 4 EC 1.14.13.39) sont des enzymes homodimères qui catalysent la formation d'oxyde nitrique (NO) dans deux cycles distincts avec la N-hydroxy-L-arginine (NHA) en tant que produit intermédiaire qui est transformé en citrulline et NO sans être libéré de l'enzyme. Les deux cycles consomment une molécule d' O_2 et tous deux nécessitent l'apport d'électrons exogènes : deux dans le premier et un dans le deuxième cycle qui sont fournis par le NADPH. **(Gorren and Mayer, 2007).**

Il existe trois isoformes différentes de l'enzyme Oxyde Nitrique synthase (NOS) notamment : (nNOS) neuronal ou (NOS I), (iNOS) inductible ou (NOSII) et endothéliale (eNOS) ou bien (NOS III) **(Förstermann and Sessa, 2012).**

5 Les réactions non enzymatiques

Les radicaux libres peuvent être produits à partir de réactions non enzymatiques de l'oxygène avec des composés organiques ainsi que celles initiées par les rayonnements ionisants. Ils peuvent également se produire lors de la phosphorylation oxydative (c'est-à-dire la respiration aérobie) dans les mitochondries **(Valko et al., 2007).**

6 Les dommages des radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces moléculaires hautement réactives, capables dans le noyau et dans les membranes des cellules d'endommager des molécules biologiquement pertinentes telles que l'ADN, les protéines, les lipides et les glucides. **(Young and Woodside, 2001).**

6.1 L'ADN

Il existe deux groupes des dommages moléculaires de l'ADN tels que les dommages actifs à l'ADN et les dommages passifs à l'ADN. Le stress oxydatif cause principalement des dommages passifs à l'ADN.

Les dommages actifs à l'ADN : sont médiés par des endonucléases d'ADN qui contiennent principalement une désoxynucléase activée par la caspase, un facteur d'induction d'apoptose et une endonucléase G, qui provoquent la fragmentation de l'ADN double brin.

Les dommages passifs à l'ADN : sont causés par l'ADN réagissant directement avec les ERO ou l'ADN réagissant indirectement avec les produits générés par la réaction des ERO et des lipides ou des protéines, entraînant des modifications des bases nucléotidiques, telles que des sites apuriniques/apyrmidiniques, ou la formation de simples/doubles cassures échouées. **(Li et al., 2011).**

6.2 Les protéines

Les espèces réactives de l'oxygène sont capables d'oxyder à la fois l'épine dorsale et la chaîne latérale des protéines qui interagissent ensuite avec les chaînes latérales des acides aminés pour générer des fonctions carbonyles **(Gandhi and Abramov, 2012).**

L'oxydation des protéines peut se produire avec l'oxydation des chaînes latérales, la fragmentation du squelette, le dépliage et le mauvais repliement, ce qui entraîne une perte d'activité **(Headlam and Davies, 2004).**

6.3 Les lipides

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) présents dans les membranes cellulaires, sont facilement oxydés en hydroperoxydes lipidiques (peroxydation). L'auto-oxydation des AGPI se produit via quatre étapes, l'initiation, la propagation, la terminaison et l'inhibition. La peroxydation lipidique est initiée par l'abstraction d'un atome d'hydrogène H en position bis-allylique d'un acide polyinsaturé par une source des ERO tels que les hydroxyles (HO^\cdot), alcoxyles (LO^\cdot) ou des radicaux peroxydes (LOO^\cdot), pour donner un radical centré sur le carbone (L^\cdot). Une fois formé L^\cdot peut propager la réaction en chaîne des radicaux libres l'oxygène moléculaire réagit d'abord à des vitesses contrôlées par diffusion avec L^\cdot pour donner un radical peroxyde lipidique (LOO^\cdot). Ce dernier peut ensuite extraire un atome d'hydrogène d'un autre lipide (LH), pour donner L^\cdot et LOOH . **(Blanksby and Ellison, 2003 ; Yin et al., 2011).** La phase d'inhibition consiste en l'auto-oxydation des (AGPI) par les composés phénoliques en piégeant les radicaux peroxydes par l'intermédiaire de l'abstraction de l'atome H du groupe phénolique, ce qui forme un radical phénoxyde (AO^\cdot) qui peut ensuite s'accoupler à un second radical peroxyde pour former un produit non radicalaire. **(Greene et al., 2018).**

La peroxydation des acides gras polyinsaturés induite par les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, en particulier les radicaux libres, détruit les composants des membranes, entraînant une augmentation de la perméabilité, un dysfonctionnement des organites et des modifications du transport des ions calcium ainsi que la rupture des membranes cellulaires en raison de déformations cellulaires (**Nigam and Schewe, 2000, Angel, 2007**). De ce fait elle est responsable de nombreuses maladies et pathologies. Notamment les maladies cardiovasculaires, le diabète sucré et l'immunodéficience humaine, l'inflammation, les maladies dégénératives et le vieillissement (**Pinchuk and Lichtenberg, 2014**).

7 Les systèmes de défenses contre le stress oxydants

Les antioxydants sont des molécules stables capable de donner un électron à un radical libre excité et le neutraliser, réduisant ainsi sa capacité à endommager. Ces antioxydants retardent ou inhibent les dommages cellulaires principalement grâce à leur propriété de piégeage des radicaux libres (**Lobo et al., 2010**). Cependant il existe deux systèmes antioxydant pour contrôler le piégeage des radicaux libres : l'une enzymatique et l'autre non enzymatique.

7.1 Le système antioxydant enzymatique

Il est sous contrôle des enzymes antioxydantes comprend le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase (**Gandhi and Abramov, 2012**).

7.1.1 Superoxyde Dismutase

Le superoxyde dismutase est un enzyme antioxydant spécialisé dans l'élimination des anions superoxydes dérivés des stimulants extracellulaires, y compris les rayonnements ionisants et les agressions oxydatives, ainsi que ceux principalement produits dans la matrice mitochondriale en tant que sous-produits du métabolisme de l'oxygène à travers la chaîne de transport d'électrons et jouent un rôle crucial dans le piégeage de l'O₂. (**Miao and St. Clair, 2009**).



Il existe Trois isoformes de SOD chez les mammifères :

La superoxyde dismutase cuivre-zinc (Cu/ZnSOD)

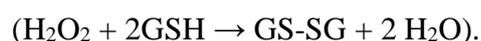
La superoxyde dismutase de manganèse (MnSOD)

La superoxyde dismutase extracellulaire (ECSOD)

Ces formes de SOD possédant des fonctions similaires, mais des caractéristiques de structures différentes. (**Miao and St. Clair, 2009**).

7.1.2 Glutathion peroxydase

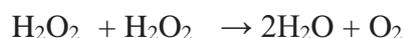
La glutathion peroxydase est un enzyme qui catalysent la réduction de H₂O₂ ou d'hydroperoxydes organiques en eau ou en alcools correspondants en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électrons (**Margis et al., 2008**)



7.1.3 Catalase

La catalase a été la première enzyme antioxydante à être découverte et caractérisée. En **1900**, **Loew** déclarait « qu'il ne semble exister aucune plante ni aucun animal sans cette enzyme particulière », en raison de son action catalytique sur le peroxyde (**Kirkman and Gaetani, 2007**).

La catalase est une enzyme contenant du ferrihème qui est responsable de la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau. Il est localisé dans les peroxysomes et peut également être trouvé dans le cytoplasme et les mitochondries. (**Dröge, 2002**)



7.2 Le système antioxydant non enzymatique

7.2.1 Le système antioxydant non enzymatique endogène

Dans le système antioxydant non enzymatique endogène il existe de nombreux métabolites tels que l'acide urique, la bilirubine et la mélatonine. L'acide urique joue un rôle important dans le piégeage des radicaux libres et la chélation des ions de métaux de transition, qui peut empêcher la nitrosylation des protéines induites par le peroxyde nitrite, (**Bowman et al. 2010**).

7.2.2 Le système antioxydant non enzymatique exogène

La Vitamine C ou acide ascorbique, est un acide organique, hydrosoluble, donneur d'électrons. Elle joue un rôle important dans plusieurs effets biologiques en raison de sa forme réduite : l'ascorbate qui est un puissant antioxydant ayant la capacité de piégeage de nombreux radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène. Elle inhibe ainsi la peroxydation lipidique. En outre la

vitamine C joue un rôle important dans la fonction vasculaire. L'ascorbate module la vasorelaxation en augmentant la synthèse de NO. Elle peut également régénérer la vitamine E (Lykkesfeldt et al., 2014).

La Vitamine E est le terme collectif qui désignant des formes tocophérols et tocotriénols présentes dans les aliments, l' α tocophérol étant la principale forme de vitamine E. La vitamine E est un antioxydant liposoluble qui piège les radicaux peroxydes et inhibe l'oxydation des acides gras polyinsaturés (Lee and Han, 2018).

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles colorés. Ils sont présents dans de nombreux aliments notamment dans les fruits, les légumes et le poisson (El-Agamey et al., 2004). Il existe plus de 600 caroténoïdes avec des variantes structurelles naturelles qui regroupent les carotènes, les xanthophylles et le lycopène.

Certains caroténoïdes présentent un potentiel antioxydant élevé lié à la présence de doubles liaisons conjuguées qui permettent à ces molécules d'accepter les électrons d'espèces réactives, neutralisant ainsi les radicaux libres. Cependant ils sont sensibles à l'isomérisation et à l'oxydation en présence d'oxygène, de lumière et de chaleur, ce qui entraîne une perte de couleur, des propriétés antioxydantes et d'activité vitaminique. (Rutz et al., 2016).

Les minéraux les plus importants qui ont la fonction antioxydante sont le zinc et le sélénium. Le zinc est un inhibiteur des NADPH oxydases. Il induit la production de métallothionéine, est un piègeur du radical hydroxyle et agit également comme un agent anti-inflammatoire et antioxydant efficace qui inhibe l'activation de NF- κ B induite par le TNF- α (Prasad et al., 2004).

Les polyphénols alimentaires sont des métabolites secondaires qui regroupent plusieurs classes principales (flavonoïdes, acides phénoliques, stilbènes et lignanes) (Pérez-Jiménez et al., 2011). Ont des effets pharmacologiques et bénéfiques pour la santé (Ganesan and Xu, 2017a). Les effets principaux des polyphénols sont ceux d'antioxydants impliqués dans la prévention des maladies dégénératives telles que le cancer et les syndromes métaboliques (Ganesan and Xu, 2017b).

8 Les propriétés antioxydantes d'*Ocimum basilicum* L

Les antioxydants ont été largement utilisés comme additifs alimentaires pour éviter la dégradation des aliments. En outre, les antioxydants jouent un rôle important dans la prévention de diverses maladies liées au mode de vie et au vieillissement, car ils sont étroitement liés à la peroxydation active de l'oxygène et des lipides (**Jayasinghe et al., 2003**).

O. basilicum contient des composés phénoliques tels que l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide sinapique et l'acide férulique. Ces composés phénoliques sont de puissants antioxydants, des piègeurs de radicaux libres et des chélateurs de métaux. (**Cook and Samman, 1996 ; Jayasinghe et al., 2003**)

9 Stress oxydatif et pathologies

Le stress oxydatif résultant d'un état de déséquilibre entre la production de radicaux libres et les défenses antioxydantes, est associé à des dommages moléculaires sur les lipides, les protéines et les acides nucléiques. (**Lobo et al., 2010**). Cependant ces dommages entraînent un large éventail de changements phénotypiques, notamment une altération de l'expression des gènes, un arrêt de la prolifération et de la croissance cellulaire ainsi que la sénescence cellulaire. (**Kreuz and Fischle, 2016**).

En outre le stress oxydatif génère un ensemble de mécanismes pathogènes importants tels que les maladies neurodégénératives le diabète et l'induction de la mort cellulaire (**Dixon et al., 2012**). Les ERO peuvent participer au développement et à la progression du cancer en induisant des dommages à l'ADN, ce qui conduit à la mutagenèse (**Mahalingaiah and Singh, 2014**). Dans l'hypertension les réactions des ERO avec NO provoquent un mécanisme pathogène majeur en inhibant la vasodilatation par le NO et générant le ONOO⁻ - (**Görlach et al., 2000**). Les ERO peuvent également conduire au développement et à la progression d'un remodelage myocardique inadapté et à une insuffisance cardiaque (**Takimoto and Kass, 2007**).

CHAPITRE 3 : L'inflammation

1 L'inflammation

L'inflammation est une réponse immédiate et non spécifique aux organismes envahissants, aux corps étrangers, aux cellules nécrotiques, aux irritants ou aux cellules néoplasiques. Cette réponse immunitaire innée nécessite une action coordonnée des cellules immunitaires, de la paroi vasculaire et des médiateurs chimiques ou humoraux. (Moreno, 1993; Xiao and Harrison, 2020), afin d'éliminer ou séquestrer l'agent lésant, de cicatriser et de réparer des plaies et à restaurer l'homéostasie tissulaire (Takeuchi and Akira, 2010).

Le système immunitaire inné est le principal contributeur à l'inflammation aiguë induite par une infection microbienne ou des lésions tissulaires (Akira et al., 2006; Beutler et al., 2006) tandis que la production de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages lors d'une infection amorce l'activation des cellules effectrices de la résistance innée. Les réponses inflammatoires précoces sont également essentielles dans la génération de cellules effectrices spécifiques de l'antigène de l'immunité adaptative. (Ma, 2001).

2 Les cellules de l'inflammation

2.1 Les cellules phagocytaires

Les macrophages sont des cellules immunitaires à l'origine de la différenciation des monocytes (Jakubzick et al., 2013). Les macrophages qui se trouvent dans les tissus périphériques peuvent répondre aux stimuli inflammatoires, proliférer et probablement jouer un rôle dans la résolution de l'inflammation. (Davies and Taylor, 2015)

Dans l'homéostasie tissulaire, les caractéristiques métaboliques de ces cellules régulent leur fonction inflammatoire par la libération des cytokines, l'expression des récepteurs de surface cellulaire et la phagocytose (Jha et al., 2015; O'Neill and Pearce, 2015).

Les cellules dendritiques sont des cellules du système immunitaire, responsables de l'activation des cellules T antitumorales. (Broz et al., 2014). Elles proviennent de la moelle osseuse plus précisément de progéniteurs myéloïdes communs (Gardner and Ruffell, 2016). Elles ont également le potentiel d'agir en tant que cellules présentatrices d'antigène et la capacité de phagocyter les cellules mortes (Villadangos and Young, 2008).

Les neutrophiles constituant la première ligne de défense cellulaire de l'hôte contre les agents pathogènes (Ley et al., 2007). Un des principaux répondeurs lors d'une inflammation aiguë, ils

représentent 50 à 70% de tous les leucocytes circulants dans le sang (**Doeing et al., 2003**). Les neutrophiles peuvent exercer diverses fonctions effectrices, telles que la migration vers un site infectieux, la phagocytose d'agents pathogènes, la destruction intracellulaire dans les phagosomes (**Amulic et al., 2012**).

Les cellules immunitaires et les cellules stomacales libèrent des protéines et des peptides antibactériens, des prostaglandines, des espèces réactives de l'oxygène (ROS), de l'oxyde nitrique (NO) et des facteurs de complément et de coagulation afin d'éliminer les organismes envahisseurs de manière non spécifique. (**Xiao and Harrison, 2020**).

2.2 Les lymphocytes

Il existe trois types de lymphocytes : les cellules B, T et les cellules tueuses naturelles (NK). Elles partagent toutes les mêmes cellules progénitrices : les cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse. (**Bhandoola and Sambandam, 2006**).

Les lymphocytes B (LB) sont des cellules responsables de la réponse immunitaire adaptative humorale, ils sont à l'origine de la génération des anticorps et servent à neutraliser les antigènes. Ils sont capables de se différencier en cellules plasmocytes et en cellules de mémoire. (**Kuokkanen et al., 2015**).

Les lymphocytes T sont divisés en quatre populations TH (helper) : TH1, TH2, TH de type 17 (TH17) sont effectrices et T régulateur (Treg). La différenciation vers l'une des sous-populations dépend du mode de stimulation, du type d'antigène, de l'intervention des molécules de costimulation et des cytokines présentes dans le milieu. (**M et al., 2010**).

Les lymphocytes T CD8, également connus sous le nom de lymphocytes T cytotoxiques ou de lymphocytes T tueurs, font partie intégrante du système immunitaire adaptatif, en particulier pour répondre aux agents pathogènes intracellulaires comme les virus (**Gerritsen and Pandit, 2016; Zinkernagel and Doherty, 1974**).

Les lymphocytes T CD4 régulent les cellules immunitaires et non immunitaires dans les réponses immunitaires via la production de cytokines, ils sont appelés cellules T auxiliaires (Th). Lors de l'activation, les lymphocytes T se différencient en cellules effectrices qui produisent des cytokines et d'autres médiateurs immunitaires. Selon leurs profils d'expression des cytokines et leurs fonctions de régulation immunitaire. (**Dong, 2021**).

Les cellules tueuses naturelles NK sont des lymphocytes du système immunitaire inné, qui représentent environ 10 à 15 % de la population lymphocytaire du sang périphérique. Ils

fournissent une réponse rapide à l'infection virale et participent à la surveillance immunitaire anti-tumorale. **(Boudreau and Hsu, 2018)**. Ils ont deux mécanismes cytotoxiques majeurs, l'apoptose et la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps **(Osínska et al., 2014)**.

2.3 Les mastocytes, polynucléaires basophiles et éosinophiles

Les mastocytes résident dans les tissus de tout le corps, mais sont plus fréquents dans des sites exposés à l'environnement extérieur, tels que la peau, les voies respiratoires et l'intestin. Dans ces endroits, ils sont bien placés pour fonctionner comme des cellules sentinelles dans la défense de l'hôte. Bien que les mastocytes soient des cellules hématopoïétiques dérivées de la moelle osseuse. **(Galli et al., 1999)**

Les mastocytes jouent un rôle central dans les allergies et autres maladies inflammatoires. Ils sont situés en contact étroit avec l'environnement externe, où ils peuvent reconnaître et être activés par des agents pathogènes invasifs via des voies dépendantes des récepteurs de reconnaissance du complément et des formes **(Marshall, 2004)**.

Les mastocytes peuvent répondre à divers produits inflammatoires, tels que les IgG, les cytokines, les chimiokines, l'adénosine, la sphingosine-1-phosphate (S1P) et l'acide lysophosphatidique (LPA), indiquant l'importance potentielle de l'activation des mastocytes dans l'initiation et la propagation de l'inflammation dans les maladies inflammatoires chroniques. **(Yu et al., 2016)**.

Les polynucléaires basophiles, communément dénommés « basophiles », sont les leucocytes circulants les plus rares, représentant environ 0,01 à 0,3 % des éléments nucléés du sang **(Feriél et al., 2020)**. Des basophiles peuvent être retrouvés en petit nombre dans des tissus comme la moelle osseuse et les muqueuses pulmonaires et nasales **(Marone et al., 2014)**.

Les principaux marqueurs exprimés par les basophiles en circulation et dans les tissus sont le CD33, le CD49b, le CD69, le récepteur à l'interleukine-3 (IL-3R), le CD192 ou CCR2, récepteur pour la chimiokine CCL2, le CD193 ou CCR3, récepteur activé par de multiples chimiokines, le récepteur de haute affinité aux IgE **(Arock, 2021)**.

Le polynucléaire éosinophile appartient à la lignée des granulocytes. Le développement et la maturation du polynucléaire éosinophile se font au sein de la moelle osseuse à partir de son

précurseur hématopoïétique exprimant le CD34. L'action des cytokines, l'IL-3 et l'IL-5, va différencier ce progéniteur en éosinophile mature. (Gil et al., 2019 ; Rothenberg, 1998).

2.4 Les plaquettes

Les plaquettes sont des cellules sanguines humaines ($3,6 \times 0,7 \mu\text{m}$) de petites tailles, elles sont spécialisées dans la défense immunitaire innée, modulatrices de la réponse inflammatoire des facteurs clés dans les processus d'hémostase et de thrombose. (Jurk and Kehrel, 2005).

Les plaquettes sont de fortes productrices de molécules qui ne semblent pas impliquées dans l'hémostase mais dont on a décrit le rôle important dans les processus pro-inflammatoires, comme l'IL-1b, le TNF-a (Garraud et al., 2011).

2.5 Les fibroblastes

Les fibroblastes proviennent de cellules souches mésenchymateuses, ils présentent une plasticité phénotypique marqué et jouent un rôle important dans la production de matrice extracellulaire et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoire. (Sartore et al., 2001), contribuent à la cicatrisation des plaies (desJardins-Park et al., 2018), sont aussi largement impliqué dans la régulation de l'homéostasie et les mécanismes du stress. (Gladka et al., 2018)

2.6 Les cellules endothéliales

Les cellules endothéliales tapissent la surface interne des vaisseaux sanguins et constituent une barrière sélective entre le sang et les tissus. Malgré un phénotype très simple, les cellules endothéliales jouent un rôle essentiel dans divers processus physiologiques, notamment le maintien de la fluidité du sang, le trafic des cellules sanguines, l'immunité innée et adaptative et la coagulation. (Michiels, 2003).

La cellule endothéliale joue un rôle actif dans la régulation de la migration des leucocytes du sang vers les tissus pendant la surveillance immunitaire. (Cook-Mills and Deem, 2005), ainsi dans la réponse à l'infection et à la septicémie (défense immunitaire). (Pate et al., 2010)

Les cellules endothéliales coordonnent le recrutement des cellules inflammatoires vers les sites de lésion ou d'infection tissulaire et produisent et libèrent des cytokines et des facteurs de croissance servant de signaux de communication aux leucocytes. De plus, les cellules endothéliales répondent à des stimuli inflammatoires comme les lipopolysaccharides (LPS) ou les cytokines. (Michiels, 2003).

Les cellules endothéliales, jouant un rôle crucial dans l'homéostasie du système vasculaire dans tout le corps. (Cong and Kong, 2020). Les cellules endothéliales vasculaires au repos maintiennent la fluidité du sang, régulent le flux sanguin, contrôlent la perméabilité de la paroi vasculaire et mettent au repos les leucocytes circulants (Poher and Sessa, 2007).

3 Les médiateurs de l'inflammation

3.1 Les cytokines pro-inflammatoires

La réponse inflammatoire est orchestrée par des cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur de nécrose tumorale (TNF- α), l'interleukine (IL-1) et l'IL-6 (Tableau 3-1). Ces cytokines sont des protéines pléiotropes qui régulent la mort cellulaire des tissus inflammatoires, modifient la perméabilité endothéliale vasculaire, recrutent des cellules sanguines dans les tissus enflammés et induisent la production de protéines de phase aiguë (Honda et al., 2006).

Tableau 2 : Les principales cytokines et chimiokines de l'inflammation (Germolec et al., 2018)

Médiateurs	Cellules	Fonctions
Cytokines		
Interleukine (IL-1)	1 Macrophages, cellules dendritiques, cellules B et T	Active les lymphocytes T et B. Augmente la production d'autres cytokines et de protéines de la phase aiguë. Induit les molécules d'adhésion.

Interleukine 6 (IL-6)	Macrophages, cellules dendritiques, cellules B et T activées .	Effets multiples sur les cellules T. Développement des cellules myéloïdes. Régulation des protéines de la phase aiguë.
Interferon Gamma (IFNγ)	Les cellules T, les cellules NK, les cellules épithéliales, Épithéliales, fibroblastes	Augmente l'expression du CMH Augmente l'activité des CTL, des NK et des macrophages. Stimule la production d'IL-1 et de TNF α .
Tumor necrosis factor alpha (TNF-α)	Macrophages, cellules dendritiques lymphocytes et mastocytes	Augmente l'expression du CMH Activation des macrophages Améliore la destruction des cellules tumorales
Chemokines		
Chimioattractant protéine-1 (MCP-1)	Cellules endothéliales, cellules épithéliales, Fibroblastes et monocytes.	Attire les monocytes. Active les macrophages et les lymphocytes T. Stimule la libération d'histamine

3.1.1 TNF- α

Le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) est l'un des médiateurs majeurs des réponses inflammatoires chez les mammifères, il joue un rôle de premier plan dans la transition entre les deux phases de l'immunité innée et adaptative. (Ma, 2001).

Les cellules principales produisant le TNF- α (cachectine), y compris les monocytes et les macrophages avec d'autres cellules secondaires notamment les lymphocytes B et T, les cellules NK, les leucocytes polymorphonucléaires, les éosinophiles, les astrocytes, les cellules de

Langerhans, les cellules de Kupffer, les cellules gliales et les adipocytes en réponse aux bactéries toxines, produits inflammatoires et autres stimuli (**Tracey and Cerami, 1993**).

3.1.2 Interleukine IL-6

L'IL-6 est une protéine glycosylée de 184 acides aminés, qui peut être synthétisée et sécrétée par de nombreux types de cellules, notamment les monocytes, les cellules T, les fibroblastes et les cellules endothéliales. (**Schaper and Rose-John, 2015**)

La cytokine interleukine 6 (IL-6) est secrétée en grande quantité lors des infections, considérée comme biomarqueur d'inflammation utilisée pour évaluer la présence et la gravité d'une inflammation de bas grade (**Del Giudice and Gangestad, 2018**).

Lorsque l'inflammation est déclenchée, l'IL-6 est libérée par les neutrophiles et les macrophages, ainsi que par les cellules résidentes au site d'infection ou de lésion, en partie induite par l'IL-1 β et le TNF- α . L'IL-6 stimule la production de neutrophiles dans la moelle osseuse, qui sont ensuite attirés vers le site d'infection. Il régule positivement le métabolisme, en partie en favorisant la lipolyse dans le foie. Il induit en outre la protéolyse dans le muscle, rendant ainsi disponibles des blocs de construction d'acides aminés pour la synthèse des protéines. (**Lochmiller and Deerenberg, 2000**).

L'IL-6 joue un rôle crucial dans la transition d'une réponse immunitaire initiale médiée par les neutrophiles à une réponse médiée par les macrophages. IL-6. Elle favorise en outre la différenciation des lymphocytes T et les lymphocytes B, ce qui entraîne des réponses immunitaires de plus en plus ciblées vers des cellules infectées (par exemple, par une attaque à médiation cellulaire par l'intermédiaire de cellules CD8 + T) et des cellules présentant des particules étrangères spécifiques de l'antigène profilés (via des réponses médiées par des anticorps via des cellules B et des cellules CD4+ (**Schaper and Rose-John, 2015**).

3.1.3 Interleukine IL1

La famille interleukine-1 (IL-1) est un médiateur central de l'immunité innée et de l'inflammation. Les membres de la famille IL-1 ont été largement associés au développement et à la progression de maladies inflammatoires, et en particulier ont été liés à des maladies neurodégénératives et neuro-inflammatoires telles que la maladie d'Alzheimer, les accidents vasculaires cérébraux, la mort des cellules ischémiques cérébrales, la sclérose en plaques, la

maladie de Parkinson, le syndrome de Down et les maladies dégénératives de la rétine, y compris la dégénérescence maculaire liée à l'âge (Wooff et al., 2019).

Il existe plusieurs membres de la famille des cytokines IL-1 et membres de la famille des récepteurs IL-1 (Tableau 3-3) Qui sont subdivisés en trois groupes : les sous-familles IL-1, IL-18 et IL-36. La sous-famille des cytokines IL-1 comprend des agonistes (IL-1 α , IL-1 β et IL-33) ainsi qu'un antagoniste des récepteurs, IL-1Ra. La sous-famille IL-18 comprend les agonistes IL-18 et IL-37, et la sous-famille IL-36 est constituée des agonistes IL-36 α , et des antagonistes des récepteurs IL-36Ra et IL-38. De plus, il existe 10 membres de la famille des récepteurs IL-1 (IL-1R) capables de se lier à des ligands spécifiques de l'IL-1 en combinaison avec un corécepteur et d'exercer des fonctions pro- et anti-inflammatoires (Dinarello, 2018).

Tableau 3 : Famille de ligands et de récepteurs IL-1 (Dinarello, 2018).

Famille IL-1	Récepteur spécifique	Corécepteur	Fonction
IL-1 α , IL-1 β	IL-1R1	IL-1R3	Pro-inflammatoire
IL-1 β	IL-1R2	IL-1R3	Anti-inflammatoire
IL-1Ra	IL-1R1	-	Anti-inflammatoire
IL-18	IL-1R5	IL-1R7	Pro-inflammatoire
IL-33	IL-1R4	IL-1R3	Pro-inflammatoire
IL-36 α	IL-1R6	IL-1R3	Pro-inflammatoire
IL-36Ra	IL-1R6	IL-1R3	Anti-inflammatoire
IL-37	IL-1R5	IL-1R8	Anti-inflammatoire
IL-38	IL-1R6	IL-1R9	Anti-inflammatoire

3.1.4 Interférons IFN

Les interférons (IFN) sont des cytokines largement exprimées qui ont de puissants effets antiviraux et inhibiteurs de croissance. Ces cytokines sont la première ligne de défense contre les infections virales et jouent un rôle important dans l'immuno-surveillance des cellules malignes. La famille IFN comprend deux classes principales de cytokines apparentées : les IFN de type I et les IFN de type II. Il existe de nombreux IFN de type I, qui ont tous une homologie structurelle considérable. Il s'agit notamment de l'IFN- α , IFN- β , IFN- δ , IFN- ϵ , IFN- κ , IFN- τ

et IFN- ω , tous les IFN de type I se lient à un récepteur commun de surface cellulaire, connu sous le nom de récepteur IFN de type I. Les IFN de type II : en fait il n'en existe qu'un seul connu sous le nom l'IFN- γ (**Pestka et al., 2004 ; Platanias, 2005**).

Une nouvelle classe d'IFN a été récemment découverte appelée IFN de type III, qui utilise un complexe de récepteur composé des chaînes réceptrices IL-10R2 et IL- λ R1. Initialement, nommés IFN- λ (IFN- λ 1, - λ 2 et - λ 3) ou interleukine (IL)-29, -28A et -28B. (**Dellgren et al., 2009**). L'IFN- λ En plus de son activité antivirale il est capable d'inhiber la production d'IL-13 par les lymphocytes T de manière dose-dépendante, De plus, l'IFN- λ agit sur les monocytes et stimule la production d'IL-6, d'IL-8 et d'IL-10 (**Jordan et al., 2007b, 2007a**).

Les IFN de type I jouent un rôle principal dans les réponses antivirales en induisant la mort cellulaire apoptotique dans les cellules infectées par un virus, en rendant les cellules résistantes à l'infection virale, en activant l'immunité acquise et en stimulant le renouvellement et la prolifération des cellules souches hématopoïétiques. (**Takeuchi and Akira, 2009**).

3.2 Les chimiokines

Les chimiokines sont des protéines de poids moléculaire compris entre 8 à 12 kDa et constituent une famille de petites cytokines hautement conservées. Elles sont généralement classées en sous familles selon le positionnement des résidu cystéines : CXC, CC, C et CX3C (**Miller and Mayo, 2017**). Les CXC et CC forment les deux principales familles de chimiokines, tandis que les chimiokines C et CX 3 C ne contiennent que la lymphotactine (Lptn) C-chimiokine, et la fractalkine et la neuroalkine pour le sous-groupe CX 3 C. Les chimiokines peuvent être divisées en cytokines inflammatoires et homéostatiques selon leur rôle dans le système immunitaire. (**Beck-Sickinger and Panitz, 2014**).

Les chimiokines se lient à sept récepteurs transmembranaires couplés à la protéine G qui déclenchent une signalisation intracellulaire qui entraîne la polarisation, l'adhésion et la migration cellulaires (**Griffith et al., 2014**).

Les chimiokines sont impliquées dans de nombreux processus biologiques, notamment la chimiotaxie, la dégranulation des leucocytes, l'hématopoïèse, et l'angiogenèse (**Belperio et al., 2000 ; Youn et al., 2000**). Ainsi que dans les troubles pathologiques notamment le cancer, le VIH/SIDA et l'athérosclérose (**Raman et al., 2011**).

3.2.1 CCL2

CCL2 est le ligand 2 des chimiokines, également connu sous le nom de monocyte chemoattractant protein-1(MCP1). CCL2 est la principale chimiokine responsable du recrutement de monocytes pro-inflammatoires pendant l'inflammation.

Son expression est déclenchée par des facteurs de transcription tels que le facteur nucléaire κ -light-chain-enhancer des cellules B activées (NF κ B) et la protéine de spécificité 1 (Sp1). Elle est également produite par différents types cellulaires, en réponse aux stimuli inflammatoires tels que le facteur de nécrose tumorale α (TNF α), l'interleukine-1 (IL-1) ou l'interféron γ (IFN γ) produits par les cellules de l'immunité innée (**O'Connor and Heikenwalder, 2021**).

Le CCL2 joue un rôle important dans les métastases cancéreuses en soutenant la prolifération et la survie des cellules cancéreuses, en stimulant la migration et l'invasion des cellules cancéreuses ainsi qu'en induisant une inflammation et une angiogenèse délétères (**Lim et al., 2016**).

3.3 Les peptides vasoactifs

Le peptide intestinal vasoactif est un neuropeptide appartenant à la famille des peptides sécrétine/glucagon, dans le système nerveux et endocrinien agissant comme un neurotransmetteur /neuromodulateur, qui exerce un large spectre de fonctions immunologiques contrôlant l'homéostasie du système immunitaire grâce à différents récepteurs exprimés dans diverses cellules immunocompétentes. Il est considéré comme un puissant facteur anti-inflammatoire, qui exerce sa fonction en régulant la production de médiateurs anti- et pro-inflammatoires. (**Chorny et al., 2006 ; Delgado et al., 2004**).

3.4 Les amines vasoactives

La sérotonine, l'histamine et la bradykinine sont des médiateurs vasoactifs qui peuvent augmenter la perméabilité vasculaire de la microcirculation cérébrale. (Khare et al., 2000).

La sérotonine (5-hydroxytryptamine, 5-HT) est une monoamine biogène produite à partir du tryptophane, acide aminé d'origine alimentaire, (**Mohammad-Zadeh et al., 2008**) Il agit comme un neurotransmetteur dans le système nerveux central (SNC), médiateur local nécessaire à la motilité du tractus gastro-intestinal et un agent vasoactif dans le sang. La sérotonine a **des fonctions variées** liée au SNC et impliquée dans de nombreux troubles du

SNC et psychiatriques. Par conséquent, les systèmes sérotoninergiques sont des cibles pour un large éventail de composés psychoactifs, notamment les antidépresseurs, les antipsychotiques et les **hallucinogènes** (Sarrouilhe and Mesnil, 2019). **Outre** toutes ses fonctions la sérotonine s'est avérée être un facteur mitogène pour un large éventail de cellules non tumorales et tumorales, qui induisent la progression des tumeurs solides jusqu'à métastase (**Sarrouilhe et al., 2015**).

L'histamine (2-[3H-imidazol-4-yl] éthanamine) est un puissant médiateur chimique de l'inflammation, se produit par décarboxylation de l'acide aminé histidine par l'enzyme L-histidine décarboxylase (HDC), qui est exprimée dans les neurones, les cellules pariétales, les cellules de la muqueuse gastrique, les mastocytes et les basophiles. L'histamine joue un rôle important dans la vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et peut même contribuer à des réactions anaphylactiques. Il agit également sur plusieurs fonctions physiologiques, telles que la différenciation cellulaire, la prolifération, l'hématopoïèse et la régénération cellulaire. (**Branco et al., 2018 ; O'Mahony et al., 2011**)

3.5 Les enzymes protéolytiques

Les enzymes protéolytiques sont un groupe hétérogène d'enzymes capables d'hydrolyser les liaisons peptidiques et sont également appelées peptidases, protéases ou protéinases. L'action des enzymes protéolytiques est essentielle dans plusieurs processus physiologiques notamment dans la digestion des protéines alimentaires, la division cellulaire, la coagulation sanguine, transduction du signal, traitement des hormones polypeptidiques, apoptose et cycle de vie de plusieurs organismes pathogènes (**Montan et al., 2013**).

Les enzymes protéolytiques ont un rôle dans la réponse immunitaire bien caractérisé très efficace pour contrôler l'inflammation. Certaines enzymes protéolytiques possèdent des propriétés anti-inflammatoires prononcées et favorisent la dégradation des métabolites toxiques et des produits inflammatoires contribuant finalement à la détoxification du corps humain. (**Tabrez et al., 2020**).

3.6 Prostaglandine E₂

La prostaglandine E₂ (PGE₂) est un lipide bioactif qui peut provoquer un large éventail d'effets biologiques associés à l'inflammation et au cancer. La PGE₂ appartient à la famille des lipides

prostaglandines, qui est une sous-classe d'eicosanoïdes produits par oxydation des acides gras essentiels (AGE) à 20 carbones qui sont couramment incorporés dans les phospholipides membranaires. Les prostanoïdes, y compris PGE₂, PGF_{2α}, DPI₂, IGP₂, et le thromboxane A₂ (TXA₂) sont synthétisés par les actions séquentielles d'un panel d'enzymes très spécifiques. Leur synthèse est initiée par les phospholipases (PLA), une famille d'enzymes qui catalysent l'hydrolyse des phospholipides membranaires en position sn-2 libérant des acides gras libres, dont l'acide arachidonique (AA) des lipides membranaires. L'expression des PGE₂ est altérée dans les cellules cancéreuses, ce qui suggère un rôle important dans le développement de la maladie (**Nakanishi and Rosenberg, 2013**).

Les enzymes catalyseurs sont les cyclooxygénase (COX). Il existe deux isoformes majeures de la COX. La COX-1 est constitutivement active et présente dans la plupart des cellules du corps, tandis que l'expression constitutive de la COX-2 est largement limitée au rein ainsi qu'aux zones du système nerveux central. Cependant, les niveaux de COX-2 sont hautement inductibles dans de nombreux tissus par des stimuli pro-inflammatoires et mitogènes, y compris les cytokines et les facteurs de croissance (**Wang and DuBois, 2006**).

3.7 Le système du complément

Le système du complément (SC) est un composant thermolabile du sérum, qui possède des propriétés antimicrobiennes, capable de compléter l'action des anticorps. Ce système fait partie du système immunitaire inné. Le SC fait référence à un ensemble de protéines sériques qui jouent un rôle primordial dans l'immunité innée. Elles permettent à l'hôte de se défendre contre les pathogènes et participent à l'élimination des cellules du soi en condition d'apoptose (**Merle et al., 2015 ; Daugan et al., 2017**).

Le SC est un réseau complexe de protéines qui participent à la réponse inflammatoire aiguë par leur activité enzymatique, leurs effets sur la libération de médiateurs, sur le chimiotactisme et la perméabilité vasculaire ainsi que leur capacité à renforcer la phagocytose. (**Germolec et al., 2018**).

Le système du complément peut être activé en cascade par trois voies : la voie classique, la voie des lectines ou la voie alterne. Ces trois voies convergent pour aboutir à l'activation de la

protéine C3 (C pour complément), la formation du complexe d'attaque membranaire (CAM). Le CAM est à l'origine de la lyse des pathogènes ou de l'activation de certaines cellules de l'hôte. Chacune de ces voies peut induire des réponses inflammatoires et moduler les réponses immunitaires innée et adaptative conduisant ainsi à l'élimination des pathogènes, des complexes immuns et des cellules apoptotiques (**Merle et al., 2015b**).

4 Les anti-inflammatoires

4.1 Les anti-inflammatoires naturels

Différents aliments ou produits naturels ont montré des effets anti-inflammatoires tels que le raisin/vin rouge (resvératrol), l'ail (divers composés), la poudre de curry (curcumine) (**Anand et al., 2008**).

Les flavonoïdes et les composés phénoliques jouent un rôle efficace en tant que facteurs anti-inflammatoires. Les activités anti-inflammatoires des composés naturels ont été rapportées dans plusieurs études et ont été observées dans de nombreuses études précliniques (**Ravipati et al., 2012**).

4.2 Les anti-inflammatoires stéroïdiennes

Les stéroïdes ont attiré beaucoup d'attention en raison de leur large spectre d'activités biologiques spéciales. Ils peuvent réguler une variété de processus biologiques et peuvent donc être transformés en médicaments pour le traitement de nombreuses maladies. (**Mohareb et al., 2011**)

Les glucocorticoïdes (GC) sont souvent utilisées dans le traitement des maladies inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde, asthme, lupus...) et des cancers hématopoïétiques ou des maladies respiratoires, (**Vitellius et al., 2018**)

4.3 Les anti-inflammatoires non stéroïdiennes

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens regroupent un ensemble de molécules présentant des propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Leur efficacité et leurs principaux effets secondaires sont liés à leur mécanisme d'action principal qui est l'inhibition des cyclo-oxygénases (COX-1 et COX-2) (**Orliaguet et al., 2013 ; S. et al., 2012**) et la diminution de la douleur et l'inflammation en limitant la formation de prostaglandines.

(Whittle, 2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens jouent un rôle bénéfique dans la réduction de l'incidence, les métastases et dans la mortalité liée à diverses tumeurs. (Wang and Dubois, 2015). Ils inhibent l'agrégat plaquettaire, ainsi la synthèse puissante du thromboxane A₂, agent pro-agrégant et vasoconstricteur. (Jeyakumar et al., 2008).

L'efficacité des anti-inflammatoires non stéroïdiens a été transcrite dans plusieurs recommandations de bonne pratique, et notamment dans la prise en charge de la douleur postopératoire chez l'adulte et l'enfant, qui précisent que les AINS sont recommandés pour l'analgésie postopératoire comme alternative ou en association à la morphine (Orliaguet et al., 2013).

5 Mécanisme de l'inflammation

L'inflammation peut être produite par plusieurs causes différentes, un caillot sanguin, un trouble de système immunitaire, une infection, un cancer, une exposition chimique aux hydrocarbure aromatique polycyclique, une blessure physique ou une affection neurologique. (Roe, 2021).

L'inflammation aiguë est une inflammation à court terme ou bien une réponse qui aboutit généralement à la guérison par infiltration de la région endommagée par les stimuli nocifs, suppression des stimuli et réparation des tissus.

Cependant l'inflammation chronique est une réponse inflammatoire prolongée dérégulée et inadaptée qui implique une inflammation active, destruction des tissus et des tentatives de réparation tissulaires. Elle est associée à de nombreuses affections et maladies humaines chroniques notamment l'allergie, l'athérosclérose, le cancer, l'arthrite et les maladies auto-immunes (Weiss, 2008).

Le mécanisme inflammatoire initie plusieurs événements cellulaires tels que l'activation des cellules inflammatoires, la libération de cytokines et d'agents chimio-attractifs. Elle stimule également l'attraction des leucocytes circulants vers le site de l'inflammation (Korniluk et al., 2017).

L'activation des macrophages par de nombreux stimuli induit l'implication du récepteur 4 de type Toll (TLR4) avec le facteur de différenciation myéloïde (MyD88) préluade au déclenchement de la voie dépendante de MyD88. L'activation de TAK1 provoque la phosphorylation des protéines kinases activées par le mitogène (MAPK) et de la kinase I-kappaB (*IκB*), et l'activation de facteur nucléaire kappaB (*NF-κB*) par ces signaux cellulaires. (Buchanan et al., 2010)

L'inflammation chronique entraîne la régulation à la hausse des médiateurs pro-inflammatoires dans les cellules touchées et la surexpression des médiateurs pro-inflammatoires tels que l'iNOS et la COX-2, et diverses cytokines, notamment le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 (**Heiss et al., 2001**)

6 Inflammation et pathologie

Dans les cas où l'inflammation ne se résout pas, par exemple en raison de la persistance d'un agent pathogène ou de l'échec de la réparation de la blessure ou du dysfonctionnement tissulaire, des dommages peuvent apparaître dans les tissus hôtes. (**Nathan and Ding, 2010**).

Le stress oxydatif et les dommages oxydatifs sont impliqués dans la physiopathologie de nombreux troubles inflammatoires et dégénératifs chroniques. Ils sont associés à une altération de l'état de santé et à une probabilité croissante de maladies chroniques telles que le cancer, l'athérosclérose, la maladie d'Alzheimer, les troubles métaboliques, etc. Ils sont probablement causés par une inflammation de bas grade entraînée par le stress oxygéné, comme l'indique l'augmentation des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6, l'IL-1 et le TNF- α , gènes codés par l'activation du facteur nucléaire kappa-B (NF- κ B) (**Sikora et al., 2010**).

7 Propriétés anti-inflammatoire d'*Ocimum basilicum*

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé que 80% des habitants du monde utilisaient la médecine traditionnelle pour leurs besoins de soins de santé primaires et la majorité de cette thérapie nécessite l'utilisation d'extraits de plantes et de leurs composants actifs. Divers extraits bioactifs de plantes médicinales et leurs constituants actifs identifiés ou isolés ont montré diverses propriétés pharmacologiques médicinales contre diverses maladies aiguës et chroniques. (**Arulselvan et al., 2016**).

Ocimum basilicum. (Basilic doux) est une herbe culinaire populaire appartenant à la famille *des Lamiaceae*, possède des propriétés anti-inflammatoires (**Mehrabi Nasaba et al., 2020**).

Takeuchi et al., 2020 ont montré que les extraits méthanoliques de feuilles de basilic réduisent l'expression de l'ARNm des cytokines inflammatoire notamment IL-6, IL-1 β , TNF α et MCP1 par la co-culture des cellules macrophages Raw 264,7 et des adipocytes 3T3-L1 de souris. D'autres études ont montré également que les extraits éthanoliques de basilic ont diminué la

réaction inflammatoire de l'œdème de la patte chez des rats exposés à une inflammation par carraghénane (**Rameshrad et al., 2014**). En plus de ces effets anti-inflammatoires il possède des effets hépatoprotecteurs contre le peroxyde d'hydrogène et le tétrachlorure de carbone en éliminant les radicaux de peroxyde et l'oxyde nitrique (**Meera et al., 2009**)

CHAPITRE 4 : Le muscle lisse intestinal

1 Physiologie de muscle lisse intestinal

1.1 Généralité sur le muscle lisse

Le muscle lisse représente la structure interne principale de divers organes dans le corps notamment l'intestin, l'estomac, la vessie, l'utérus et les voies respiratoires. Recevant l'innervation du système nerveux autonome mais aussi par des stimuli autocrines ou paracrines. (Heghes et al., 2019)

2 Structure de muscle lisse

En général, les cellules musculaires lisses mesurent environ 200 à 300 μm de longueur et 5 à 15 μm de largeur. La caractéristique la plus frappante du muscle lisse est l'absence de stries transversales visibles. Les corps denses et les filaments contractiles occupent environ 80% de l'intérieur de la cellule. Trois types de filaments peuvent être se distinguent dans les cellules musculaires lisses : filaments fins d'actine, filaments épais de myosine et filaments intermédiaires. Des filaments intermédiaires relie des corps denses dans le cytoplasme en bandes denses sur la membrane plasmique. (Bitar, 2003)

3 Mécanisme de contraction et relaxation du muscle lisse intestinal

3.1.1 Contraction du muscle lisse intestinal

La contraction des muscles lisses gastro-intestinal est assurée par des cellules musculaires lisses, des cellules interstitielles de Cajal (ICC), des cellules fibroblastes, des hormones et des substances paracrines (Sanders, 2008).

La contraction des muscles lisses est déclenchée par l'augmentation du Ca^{2+} cytosolique. Les ions Ca^{2+} se lient à la calmoduline et le complexe Ca^{2+} -calmoduline activent la chaîne légère et de la myosine et de la chaîne de kinase (figure 5). (Currò, 2016). La source de l'augmentation des niveaux de calcium cytosolique peut être extracellulaire ou intracellulaire, ou une combinaison des deux. (Kuo and Ehrlich, 2015).

Le mécanisme principal pour initier la contraction des muscles lisses implique une augmentation de Ca^{2+} conduisant la myosine à la phosphorylation de la chaîne légère régulatrice (RLC), la phosphorylation de RLC de la myosine modifie l'orientation des ponts croisés de la myosine, permettant l'activation par l'actine de l'activité ATPase de la myosine. Un mécanisme similaire se produit avec la myosine II non musculaire avec des effets sur de nombreuses fonctions dépendantes de l'actomyosine cellulaire. La phosphorylation Ca^{2+} dépendante de RLC est médiée par Ca^{2+} / calmoduline dépendante de la chaîne légère de la myosine kinase (MLCK), tandis que la phosphatase à chaîne légère de myosine déphosphoryle RLC (Isotani et al., 2004).

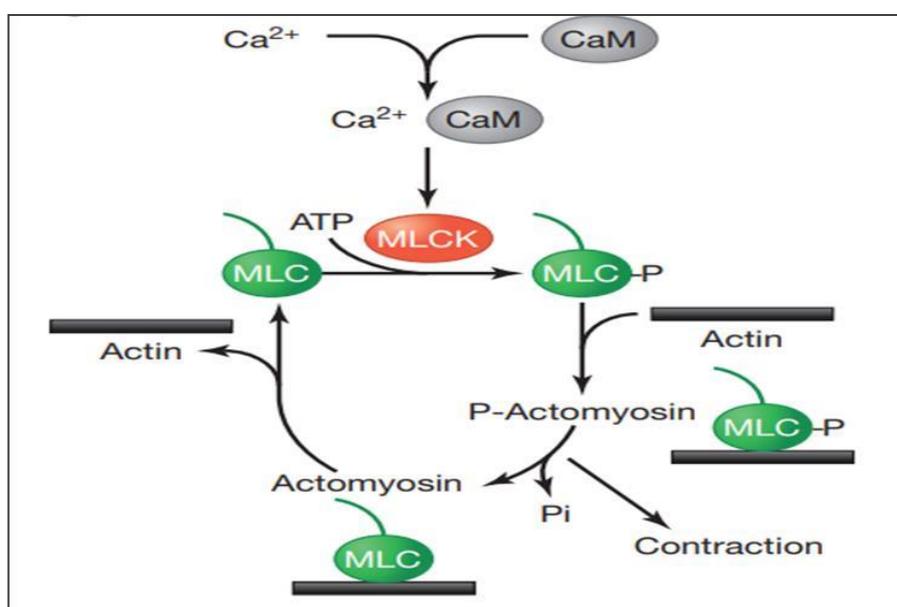


Figure 7 : Contraction du muscle lisse ; Dans les muscles lisses, le calcium se lie à la calmoduline et provoque l'activation de de la chaîne légère de la myosine (MLC) (la kinase MLCK). Cela phosphoryle le MLC, qui se lie ensuite à l'actine pour former de l'actomyosine phosphorylée, permettant au cycle de pont croisé de démarrer. (Kuo and Ehrlich, 2015)

3.1.2 Relaxation du muscle lisse intestinal

Les ions Ca^{2+} au niveau de repos entraînent la dissociation de Ca^{2+} de CaM, l'inactivation de MLCK et la déphosphorylation de la myosine catalysée par MLCP. La relaxation se produit généralement après le retour de Ca^{2+} intracellulaire aux niveaux de repos. Les principaux peptides relaxants de l'intestin, peptide intestinal vasoactif et adénylate hypophysaire peptide

activateur de cyclase, stimule l'adénosine cyclique monophosphate (cAMP) et la guanosine monophosphate cyclique (cGMP) dans le muscle lisse et activent les deux protéine kinase (PK) dépendante de l'AMPc (PKA) et PK dépendante de la cGMP(PKG). (Carvajal et al., 2000) . La PKG peut agir sur diverses cibles pour réguler Ca^{2+} , la mobilisation et induire la relaxation. La PKG inhibe la formation d'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) dépendant de la libération de Ca^{2+} , stimule le plasmalemme et la pompes Ca^{2+} -ATPase sarcoplasmiques, augmentant ainsi l'absorption de Ca^{2+} en stimulant l'efflux de Ca^{2+} des cellules, Elle inhibe également l'activité du canal Ca^{2+} et stimule activité du canal K^{+} , provoquant une hyperpolarisation membranaire et une réduction de l'influx de Ca^{2+} dans la cellule via les canaux Ca^{2+} dépendant de la tension. (Bitar, 2003).

3.1.3 Contraction de base du muscle lisse intestinal

En l'absence des stimulations neuronales ou hormonales le muscle lisse de l'intestin grêle se contracte rythmiquement ; ces contractions sont appelées phasiques (Montgomery et al., 2016) Elles sont déclenchées par l'activité d'un type cellulaire particulier, la cellule interstitielle de Cajal (ICC) (McHale et al., 2006).

Selon Horiguchi et al., 2003 il existe différentes types d'ICC sont présente dans la paroi du tube digestif. On distingue de la séreuse vers la lumière de tube digestif quatre types différents : Les ICC-SS, situées sous la séreuse, présentes ou absentes suivant la portion de tube digestif. Les ICC-IM, mélangées aux cellules musculaires lisses, dans les deux couches musculaires, longitudinale externe et circulaire interne.

Les ICC-MY, associées au plexus myentérique (également appelées ICC-MP ou ICC-AP pour Auerbach plexus), entre les couches musculaires circulaire et longitudinale.

Les ICC- SM, le long de la surface interne de la couche musculaire circulaire contre la sous-muqueuse, associées au plexus sous-muqueux (également appelées ICC-DMP, pour plexus nerveux de la couche musculaire profonde).

Les ICC se trouvent dans la région myentérique (entre les couches musculaires). Elles déclenchent des ondes lentes, des potentiels de dépolarisation et fonctionnent comme stimulateur cardiaque) (Hirst and Ward, 2003). Ces ondes génèrent le rythme électrique de base des contractions phasiques (Laura et al., 2015).

4 Régulation de la sensibilité au Ca^{2+}

L'activation de la chaîne légère de la myosine kinase et la phosphorylation de MLC20 dans les SMC est dépendant de Ca^{2+} mais il existe des voies supplémentaires qui modulent la sensibilité au Ca^{2+} de l'appareil contractile, telle que différents agonistes peuvent déclencher des événements contractiles de différentes amplitudes avec des changements équivalents dans $[\text{Ca}^{2+}]$. Une $[\text{Ca}^{2+}]$ neutre en fonction de la courbe de force (telle qu'une réponse contractile à l'entrée de Ca^{2+} via des canaux ioniques dépendants de la tension) pourrait se déplacer considérablement vers la gauche (membrane cellulaire) lorsque des agonistes excitateurs, tels que l'acétylcholine, stimulent les muscles ; dans de tels cas, de faibles niveaux de $[\text{Ca}^{2+}]$ peut provoquer la contractilité réponses d'amplitude bien supérieure à la normale. (**Sanders et al., 2012**).

La sensibilisation au Ca^{2+} est contrôlée par l'activité de la chaîne légère de myosine phosphatase (MLCP). La contraction est initiée par la phosphorylation de la chaîne légère de myosine à 20 k Da (MLC20), de sorte que la déphosphorylation de la myosine réduit la contraction. La phosphorylation de la MYPT (la sous-unité régulatrice de la MLCP) réduit l'activité de la phosphatase et maintient le cycle et la contraction des ponts croisés (**Sanders et al., 2012**).

L'augmentation du Ca^{2+} cytosolique dans les cellules musculaires lisses est due soit à l'afflux de Ca^{2+} via des canaux Ca^{2+} voltage-dépendants ($\text{CaV}1.2$), ces canaux s'ouvrent en réponse à dépolarisation membranaire, soit à la libération de Ca^{2+} des réserves intracellulaires du réticulum endoplasmique via le récepteur de l'inositol triphosphate (IP 3R). (**Curro, 2016**).

5 Régulation du muscle lisse par les neurones

La régulation du tractus gastro-intestinal est sous contrôle de système nerveux entérique (ENS). Il est caractérisé par des circuits neuronaux entiers comprenant des neurones sensoriels, des interneurons et des motoneurons). Chez les mammifères, les neurones responsables de la coordination du comportement moteur de l'intestin sont les motoneurons inhibiteurs et excitateurs qui se trouvent dans le plexus myentérique (**Spencer et al., 2018**).

Les réponses des muscles lisses gastro-intestinaux sont modulées par des neurotransmetteurs excitateurs et inhibiteurs. L'acétylcholine est le neurotransmetteur excitateur le plus important,

et les réponses post-jonctionnelles sont médiées par les récepteurs muscariniques (M2 et M3). **(Sanders et al., 2012)** .

Il y a des études qui ont démontré que l'ACh augmente l'amplitude des contractions spontanées dans l'intestin grêle du lapin et la fréquence de ces contractions dans les couches musculaires circulaires mais pas longitudinales **(Hansen, 2003)**.

L'oxyde nitrique (NO) est considéré comme le neurotransmetteur inhibiteur prédominant, et il est couplé, via des récepteurs post jonctionnels non traditionnels c'est-à-dire des protéines cytoplasmiques de type guanylate cyclase $GC\alpha$ et β .

La Purine qui se trouve dans le β -nicotinique adénine dinucléotide (β -NAD), est un neurotransmetteur inhibiteur dans les muscles lisses gastro-intestinaux, Les purines se lient aux récepteurs P2Y1 dans les cellules post-jonctionnelles, provoquent la production d'IP3 et de diacylglycérol **(Sanders et al., 2012)**.

6 Physiopathologie du muscle lisse intestinal

Les maladies gastro-intestinales consistent en différentes combinaisons de maladies chroniques ou récurrentes, dont les causes physiologiques, biochimiques, infectieuses, anatomiques ou structurelles sont non identifiables, Le syndrome du côlon irritable (IBS) est l'une de ces maladies. Il s'agit d'un trouble intestinal caractérisé par une constellation de symptômes, dont des douleurs abdominales associée à un ou plusieurs symptômes d'altération de la fonction intestinale tels que diarrhée, constipation ou alternance de diarrhée et constipation. C'est un trouble fonctionnel courant de l'intestin, qui touche de nombreuses personnes **(Karim et al., 2010)**.

La douleur abdominale est généralement causée par de puissantes contractions des muscles lisses par les actions du système nerveux entérique. Cliniquement, la douleur causée par des spasmes gastro-intestinaux est généralement traitée avec des médicaments qui induisent une relaxation des muscles lisses. **(Chey et al., 2001)**.

7 Propriétés antispasmodique d'*Ocimum basilicum*

Les composés antispasmodiques sont particulièrement utilisés pour réduire la motilité intestinale dans les spasmes musculaires lisses gastro-intestinaux. Les troubles de la motilité gastro-intestinale sont décrits par des contractions intestinales anormales, y compris l'achalasia, les troubles de la motilité œsophagienne non achalasiatique, la dyspepsie, la gastroparésie, la

pseudo-obstruction intestinale chronique, le syndrome du côlon irritable (SCI) et la constipation chronique (**Duangjai et al., 2021**).

Les composés antispasmodiques sont également utilisés pour diminuer les crampes et l'inconfort du tractus gastro-intestinal dû à la contraction des muscles lisses. Ces contractions sont provoquées par plusieurs affections touchant les voies gastro-intestinales, biliaires ou génito-urinaires. Plusieurs plantes aromatiques et médicinales ont été utilisées pour le traitement des troubles gastro-intestinaux (**Hicks.,2007**).

Une étude réalisée sur l'iléon de cobaye a montré que le basilic présente un effet antispasmodique dû à l'inhibition des canaux calciques Ca^{2+} à des concentrations de 3 à 10 mg/ml d'extrait hydro-méthanolique (**Janbaz et al., 2014**).

O. basilicum s'est révélé posséder des effets bronchodilatateurs et relaxants. L'extrait hydroéthanolique macéré de feuille d'*O.basilicum* (0,75, 1,50 et 3,00 mg/ml) a considérablement diminué le tonus contractile du muscle lisse trachéal induit par la méthacholine et le KCl de manière dose-dépendante. (**Eftekhari et al., 2019**).

Certains composés chimiques de l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* (parties aériennes) présentent des propriétés antispasmodiques : hydrocarbures tel que les sesquiterpènes : représentent 2–3% de β -caryophyllène en huile essentielle ; Alcools : linalol 40–55%, -alcool fenchylique 3–12%, terpinen-4-ol 1,6%, -terpinéol 2% ; Phénols : eugénol 1–19%, iso-eugénol 2% Oxydes : 1,8-cinéole 2–8% ; Éthers : méthyl chavicol 3–31%, méthyleugénol 1–9% Esters: cinnamate de méthyle 0,1–7%. (**Heghes et al., 2019**).

DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX DE LA THESE

Introduction

Ocimum basilicum L. est une plante médicinale aromatique appartenant à la famille des Lamiacées connue sous le nom de basilic doux et également appelée roi des herbes. C'est une plante annuelle largement répandue et cultivée dans le monde entier. Ce genre d'herbacées englobant plus de 100 espèces aromatiques est originaire d'Asie, d'Inde, d'Afrique, d'Amérique du Sud. Le basilic a trouvé un large éventail d'applications dans divers domaines tels que la médecine traditionnelle, les industries pharmaceutiques, cosmétiques, nutraceutiques et alimentaires. Son profil aromatique en fait une épice très courante pour la préparation des repas dans diverses cultures pour apporter arôme et saveur. Les parties les plus utilisées de la plante sont les feuilles et les graines. Les feuilles peuvent être utilisées pour la cuisine, la production d'huiles essentielles et comme composant de diverses boissons. Les graines sont intégrées comme ingrédient fonctionnel dans la transformation de produits alimentaires et non alimentaires. À l'inverse, les tiges sont rarement étudiées pour leur utilisation. Elles peuvent trouver une application dans l'aromatisation des aliments et une référence indique un usage en médecine traditionnelle. Les effets sur la santé d'*Ocimum basilicum* L. (OB) sont reconnus et décrits dans la littérature scientifique. Il contient plus de 200 composés phytochimiques bioactifs issus de différentes familles chimiques. En plus des macronutriments, des glucides, des lipides, des protéines et des mucilages, le basilic contient des micronutriments dont des vitamines, des minéraux et des métabolites secondaires comme des polyphénols, des flavonoïdes. Son huile essentielle contient des composés terpéniques, des monoterpènes et des sesquiterpènes, c'est-à-dire du linalol, du limonène, du géraniol, du caryophyllène et de l'alpha-cadinol. Les métabolites secondaires du basilic et plus spécifiquement les composés bioactifs phénoliques ont été explorés. Parmi les principales molécules de type flavonoïdes présentes dans le basilic, la quercétine et la rutine sont les plus représentées avec la catéchine, le kaempférol et la lutéoline. Les principaux composés phénoliques trouvés dans OB seraient l'acide rosmarinique suivi des dérivés de l'acide caféique. Les principaux dérivés sont généralement les acides chicorique, caftarique, caféique, coumarique, gallique et chlorogénique. Les propriétés santé attribuées à *Ocimum basilicum* L. reposent sur sa teneur en métabolites secondaires, c'est-à-dire en composés phénoliques et flavonoïdes. Les bioactivités des feuilles d'OB sont les plus fréquemment décrites dans la littérature scientifique et en médecine traditionnelle. Le potentiel thérapeutique des extraits de feuilles apparaît assez diversifié. Ils sont utilisés pour les maux de tête, l'inflammation des voies respiratoires (mal de gorge, laryngite, bronchite), le dysfonctionnement rénal des MICI (maladie inflammatoire

chronique de l'intestin), comme antipyrétique et anticancéreux, entre autres applications. De plus, les extraits d'OB semblent générer des effets pharmacologiques bénéfiques en tant qu'antioxydants, anti-inflammatoires, analgésiques et antispasmodiques. Ils agissent sur les maladies métaboliques et immunitaires avec inflammation chronique telles que le syndrome métabolique et les maladies intestinales. La bioactivité des extraits de plantes est connue pour être influencée par le type d'accession, les conditions de croissance et la période de récolte dans l'année. En effet, la géographie, la pédologie et la saison modulent la qualité et les quantités relatives des composés phytochimiques, donc le rendement optimal en principes actifs altérant ainsi le potentiel d'effet sur la santé. De plus, le choix des sous-parties prélevées sur la plante peut être un déterminant du profil de bioactivité. Chaque partie d'un végétal peut avoir un profil chimique qualitatif et quantitatif spécifique en raison de la distribution différentielle des composés phytochimiques en fonction du rôle de l'organe et des voies métaboliques associées. Dans ce contexte, chaque partie d'un végétal peut porter une bioactivité différentielle permettant d'adresser des objectifs pharmacologiques spécifiques et de valoriser des sous-parties végétales autrement considérées comme des co-produits de faible valeur. L'objectif de la présente étude était d'explorer les profils phytochimiques, antioxydants, anti-inflammatoires et antispasmodiques différentiels des extraits de feuilles et de tiges d'*Ocimum basilicum* L. Ces investigations visent à mieux comprendre les différents potentiels bioactifs de l'OB et à démêler le potentiel nutrition-santé du coproduit de la tige. A notre connaissance, c'est la première fois qu'une telle exploration est entreprise sur *Ocimum basilicum* L.

Matériels et Méthodes

1 Le matériel végétal

Les parties aériennes d'*Ocimum basilicum* ont été collecté pendant l'hiver (février 2020) au Kenya. Le basilic a été identifié par une botaniste Madame Sylvie Morel et un échantillon a été conservé au laboratoire de Botanique et Mycologie de l'Université de Montpellier.

2 Préparation des échantillons et des extraits

Les parties aériennes (feuilles, tiges) de basilic ont été séparées et séchées à l'air libre. Ces dernières ont été broyées à l'aide d'un moulin à herbes spécial (Thermomix). Environ 50 grammes de poudre de feuilles de basilic a été mélangé avec 200 mL d'eau pour la préparation de l'extrait aqueux. D'autre part 50 grammes a été mélangés avec 200 mL d'éthanol absolu pour préparer l'extrait éthanolique. Pour les tiges 15 g ont été mélangés avec 60 ml d'eau (extrait aqueux), et 60 ml d'éthanol absolue (extrait éthanolique).

Les extractions ont été réalisées sous ultrason (45KHz, 10min). Ce processus a été répété 5 fois, après. Les extraits obtenus ont été filtrés à l'aide de papier filtre, séchés à sec et pesés pour déterminer le rendement d'extraction puis conservés à -20°C afin de les analyser.

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

$$R = \text{Masse d'extrait sec en g} \times 100 / \text{Masse de basilic séché en g}$$

3 Analyses chromatographiques des extraits de basilic

Les extraits de basilic ont été analysés par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse Acquity UPLC (Waters, Massachusetts, USA). Les composés ont été analysés en fonction de leurs temps de rétention, de leurs spectres UV-Vis et de leurs spectres de masse. Le spectre de masse a été acquis à l'aide d'un Synapt G2-S (Waters, USA) réglé à l'ionisation ESI-, pour une gamme de masse de 50-1600 Da, avec une source à 140 °C, une tension capillaire de 3 kV et une température de désolvatation de 450 °C avec les mêmes paramètres chromatographiques.

Les extraits de basilic ont été préparés dans de l'eau distillée et du méthanol (30 mg/ml), 20 µl ont été injectés. L'instrument était équipé d'une colonne C18 ACE 250 mm x 4,6 mm x 5 µm (Advanced Chromatography Technologies Ltd, Scotland). La DAD a été réglée à 280, 330 et 380 nm. Les phases mobiles étaient l'acide formique à 1% dans de l'eau pure comme phase A et l'acétonitrile comme phase B. Le débit était réglé à 0,7 ml min⁻¹ et à 30 °C. Le gradient était

fixé à 98% de A et 2% de B (à l'étape initiale), stabilisé à 2% de B pendant 1 min, augmentant à 20% de B de 1 à 3 min, à 40% de B de 3 à 6 min, à 60% de B de 7 à 8 min, à 80% de B de 8 à 9 min, à 100% de B de 9 à 11 min, retour à la condition initiale (2% de B) en 3 min et maintien pendant 3 min.

4 Evaluation des propriétés antioxydants

4.1 Dosage du TPC

La teneur en composés phénoliques totaux dans chaque extrait a été déterminée par la méthode folin-ciocalteu suivant la procédure de **Morel et al (2018)**. 50µl d'échantillon préparé dans le DMSO (0.5mg/ml) ont été mélangés avec 50µl d'eau ultra pure HPLC, 50 µL 10% de réactif folin-ciocalteu et 50µL 1M de NaCO₃ dans une plaque 96 puits l'incubation de la plaque se fait à une température ambiante pendant 60 min sous agitation à l'abri de la lumière. L'absorbance a été mesurée à 650 nm au spectrophotomètre U.V (Berthold technologie). L'acide gallique a été utilisé comme référence et les résultats ont été exprimé en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme extrait sec (mg GAE/g).

4.2 Test DPPH

Le DDPH, 1,1-diphényl-2-picryl-hydresil, a été utilisé pour évaluer la capacité de piégeage des radicaux libres des extraits éthanoliques et aqueux de basilic, en utilisant la méthode décrite par **Morel et al, 2018**. Une quantité de 100 µl de différentes concentrations d'extraits de basilic préparé dans l'éthanol (0.2, 0.5, 1 mg/ml) a été mélangée avec du 25µL (0,4 mg /mL) DPPH et 75 µL de l'éthanol absolu dans une plaque. L'acide chlorogénique (0.01 mg/ml) et le romarin (0.2 mg/mL) ont été utilisés comme contrôles positifs et le trolox (12.5, 25, 50, et 75 µM) comme référence pour calculer l'CI₅₀. La plaque a été incubée pendant 30 min à température ambiante à l'abri de la lumière et lue par spectrométrie UV (Berthold technologie) à 550 nm. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'inhibition et calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = \frac{DO(0\mu\text{M}) - DO \text{ extrait}}{DO(0\mu\text{M})} \times 100$$

4.3 Test ORAC

Les tests ORAC ont été réalisés dans des plaques de polypropylène à 96 puits, comme décrit précédemment (Morel et al 2018). Les échantillons ont été solubilisés dans du DMSO à une concentration de 1 mg/mL avant d'être dilués à 25 µg/mL à l'aide d'un tampon phosphate à pH 7,4. Sur la microplaque 96 puits, 20 µL de solutions de Trolox à 0,6, 25, 12,5, 25, 50 et 75 µM comme courbe standard, ou d'acide chlorogénique (0,01 mg/mL), ou d'extrait éthanolique de romarin (12,5 µg/mL) comme contrôle positif, ou les extraits à une concentration de 25 µg/mL, ont été appliqués. Ensuite, 100 µL de tampon phosphate et 100 µL de solution de fluorescéine préparée extemporanément (0,1 µM dans le tampon phosphate) sont ajoutés. La microplaque est incubée à 37°C pendant 10 min sous agitation. La réaction a été initiée avec 50 µL d'AAPH. La fluorescence a été enregistrée à une longueur d'onde d'excitation de 485 nm et une longueur d'onde d'émission de 535 nm, pendant 70 min en utilisant un lecteur de microplaques Tristar LB 941. Les valeurs ORAC finales ont été calculées en utilisant une équation de régression entre la concentration de Trolox et l'aire sous la courbe de fluorescéine décroissante. Les données sont exprimées en µmoles d'équivalents Trolox par gramme d'extrait sec.

4.4 NO scavenging :

L'activité de piégeage du basilic sur l'oxyde nitrique a été déterminée selon la méthode suivante, différentes concentrations d'extraits éthanoliques de (50 à 200 µg/ml) ont été préparées dans le HBSS et mélangées avec du nitroprusside de sodium (5mM), le contrôle (nitroprusside de sodium seul) a été incubé pendant 2 heures à la température ambiante sous une lampe, la concentration de nitrite a été déterminée par la réaction de Griess et l'absorbance mesurée à 550 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage de capacité de piégeages de NO (% de scavenging)

5 Evaluation des propriétés anti-inflammatoires

5.1 Culture cellulaire

Les cellules macrophage J774 de souris ont été cultivées dans des flasques stériles 75 et des plaques de 24 puits dans un milieu de croissance RPMI avec Glutamax. Complété par 10% de sérum bovin fœtal (Gibco) avec 1% d'antibiotique (pénicilline streptomycine) et maintenue dans des conditions de cultures standard atmosphère humide avec 5% de CO₂ à 37°C.

5.2 Traitement et activation des cellules

Les cellules cultivées dans des plaques de 24 puits (5×10^5 cellules/ puits) ont été prétraitées avec l'extrait éthanolique des feuilles et tiges de basilic à différentes concentrations (de 200 à 50 µg/ml). Les extraits ont été solubilisé dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). Après dilution dans le milieu de culture RPMI complet le % du DMSO dans les puits a été inférieur à 0.5%. Après une durée de prétraitement de 4 heures avec les extraits, les cellules sont stimulées par l'association du LPS/IFN (100ng/10ng/ml). Des surnageants ont été collectés après 4 et 24 heures de stimulation et conservé à -20 C° pour le dosage des nitrites, TNF, IL6, PGE2 et MCP1.

5.3 Mesure de la viabilité cellulaire

Le test de viabilité cellulaire a été réalisé avec l'aide de deux composés, le sel de tetrazolium :3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS) et un réactif accepteur d'électrons: la phenazine methosulfate (PMS). La réduction du MTS en Formazan par la déshydrogénation des cellules actives correspond aux cellules viables ; Les cellules ($6 \cdot 10^5$) sontensemencées dans une plaque 96 puits stérile avec un volume de 100 µl de cellules /puits dans un milieu de culture RPMI complet incubé à 37 C° pendant 1h pour l'adhérence. Ensuite les cellules ont été traitées avec l'extrait éthanolique de feuilles et tiges du basilic avec différentes concentrations (50 à 200 µg/ml) pendant 20h. Après 20 h incubation, 20µl de MTS/PMS ont été ajouté à chaque puits. Ensuite la plaque est incubée pendant 4 h et l'absorbance a été mesurée à 490 nm. Le % de viabilité cellulaire a été calculé selon la formule suivant :

% viabilité cellulaire= absorbance des échantillons $\times 100$ / absorbance du contrôle.

5.4 Dosages des nitrites

Les nitrites sont dosés après 18 heures de stimulation dans les surnageants des cellules par le réactif de Griess dans des plaques de 96 puits et incubées à la température ambiante pendant 10 min. L'absorbance a été mesurée à 550 nm. Une gamme d'étalon de NaNO₃ a été utilisée pour calculer la concentration en nitrite.

5.5 Dosage des Interleukines 6 (IL-6)

L'interleukine 6 (IL6) est dosée dans des surnageants des macrophages J774.A1 après 20h de stimulation avec du LPS/IFN γ et 4h de prétraitement avec les extraits éthanoliques d'*ocimum basilicum* (50,75,100,150 et 200 μ g/ml). Le dosage est une méthode immuno--enzymatique de type ELISA (Enzyme-labeled Immunosorbent Assay) sandwich. Qui utilise un duo d'anticorps (Invitrogen Thermo Fisher SCIENTIFIC) les procédures du dosage sont réalisées selon les instructions du fabricant.

Les résultats sont exprimés en pourcentages d'inhibition de la production d'IL-6.

5.6 Dosage du TNF- α (Tumor Necrosis Factor alpha)

Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) est dosée dans des surnageants des macrophages J774.A1 après 3h de stimulation avec du LPS/IFN γ et 4h de prétraitement avec les extraits éthanoliques d'*ocimum basilicum*. Le dosage a été réalisé selon les instructions contenues dans le kit-ELISA (Kit ELISA TNF alpha Mouse ; Thermo Fisher Scientific). La méthode c'est ELISA immuno-enzymatique sandwich. Les résultats sont exprimés en concentration de production du TNF- α .

5.7 Dosages du Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)

Le dosage du Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) a été réalisé selon les instructions contenues dans le kit-ELISA (MCP-1 alpha Mouse Uncoated ELISA kit ; Thermo Fisher Scientific). Après prétraitement avec les différentes concentrations d'extraits éthanoliques de basilic pendant 4h, les cellules ont été stimulées avec du LPS 100 ng/mL (*E. coli*, 555B5) et de

l'INF γ de souris 10 ng/mL pendant 20h. La libération de MCP-1 dans les surnageants cellulaires a été testée par dosage ELISA immuno-enzymatique sandwich.

Les résultats sont exprimé en pourcentage d'inhibition de la production de MCP-1.

5.8 Dosages des PGE2

L'évaluation de l'effet d'extrait éthanolique des tiges sur la production de la prostaglandine E2 a été réalisée par le dosage immuno-enzymatique compétitif (ELISA) sur les surnageants de culture après prétraitement et activation ultérieure des cellules avec LPS/IFN γ en utilisant le Cayman PGE2 ELISA KIT Monoclonal. Les résultats sont présentés en pourcentages d'inhibition des PGE2 ainsi sa production.

6 Evaluation de l'activité antispasmodique

6.1 Animaux

L'évaluation de l'activité antispasmodique du basilic sur les muscles lisses de jéjunum a été réalisé sur un modèle animal de rats wistar males (336-428 g) qui ont été achetés chez janvier. Tous les rats ont été maintenus dans des conditions environnementales stables (température 22+- °C), avec un cycle d'éclairage (lumière/obscurité ,12/12h).

6.2 Préparation du jéjunum des rats, montage

Les rats ont été sacrifiés par exsanguination. Le jéjunum a été prélevé et nettoyé avec du liquide de tyrode , coupé en fragment de 10 mm et monté sur des porte organes puis placés dans des cuves à organes isolés à double paroi contenant du tyrode (9ml). Le tyrode dont la composition est la suivante ((NaCl : 137 mmol/l, KCl : 2,7 mmol/l, MgCl 2-6H 2 O : 1 mmol/l, CaCl 2 - 2H₂O : 1,8 mmol/l, NaHCO₃: 11,9 mmol/l et Glucose : 5,5 mmol/l) est maintenu à une température de 32°C et oxygéné par un mélange de (95% O₂, 5%CO₂). Une période d'équilibration de 40 min durant laquelle des lavages ont été effectués toutes les 10 minutes est effectué.

Les fragments de jéjunum ont été relié à des capteurs de tension isométrique avec une tension de base de 1 gramme. Les réponses et les signaux ont été enregistrés et analysés avec un système informatique (Mac-Lab. V3.6).

6.3 Effet antispasmodique

Après une période d'équilibration, les fragments de jéjunum sont stimulés par l'acétylcholine, 10^{-5} M (neurotransmetteur ayant pour effet d'interagir avec les récepteurs muscariniques). Une autre période d'équilibration de 40 min a été effectuée, les segments de jéjunum ont été exposés à une contraction avec du BaCl_2 $4 \cdot 10^{-4}$ M ou de la méthacholine $3 \cdot 10^{-6}$ M pendant 5 min, après une autre période d'équilibration de 40 min dans du tampon Tyrode. Différentes concentrations (1, 3, 6, 10 mg/ml) des extraits aqueux de feuilles et de tiges de basilic, un tampon(témoin) et (aminophylline $3 \cdot 10^{-3}$ M) ont été ajoutés pendant 10 min de prétraitement avec les segments. Une seconde contraction avec BaCl_2 $4 \cdot 10^{-4}$ M ou de la méthacholine (un antagoniste muscarinique) $3 \cdot 10^{-6}$ M a été réalisée.

Le pourcentage de contraction a été calculé selon la formule suivante :

Contraction (%) = $[(\text{Tension (g) après deuxième ajout de } \text{BaCl}_2 \text{ ou de méthacholine} - \text{tension (g) après ajout d'extraits}) \times 100 / \text{Tension (g) premier ajout de } \text{BaCl}_2 \text{ ou de méthacholine} - \text{tension de base (g)}]$. Le pourcentage inhibiteur de contraction (relaxation) a été calculé comme suit :

Relaxation % = $100 - \text{contraction (\%)}$.

7 Analyse statistique

Tous les résultats obtenus dans notre étude sont exprimés en moyenne \pm SD standard de déviation, L'analyse statistique a été réalisée à l'aide tu test ANOVA unidirectionnelle avec Tukey post hoc. Les différences étaient considérées comme significatives lorsque $p < 0,05$.

Résultats

1 Rendement d'extraction

L'extraction ultra sonore des parties aériennes d'*Ocimum basilicum* avec l'eau et l'éthanol nous a permis d'obtenir des extraits secs et des rendements d'extraction présentés dans le (Tableau 4). Les résultats obtenus montrent que l'extraction avec l'eau à générer des rendements plus importants pour les tiges 29,63% et les feuilles 16,77%, en comparaison avec l'extraction éthanolique (feuilles 5,36 % et 2,29% pour les tiges).

Tableau 4 : Rendement d'extraction d'*Ocimum basilicum*.

Extraits	Matière sèche (g)	Extraits sec (g)	Rendement (%)
Extrait éthanolique des feuilles	50	2.6807	5,36
Extrait aqueux des feuilles	50	8.3858	16,77
Extraits éthanoliques des tiges	15	0.3434	2,29
Extrait aqueux des tiges	15	4.4449	29,63

2 Analyses phytochimiques des extraits de basilic

Les résultats obtenus par l'analyse chromatographique UPLC des extraits éthanolique et aqueux de basilic sont présentés dans la **figure 8 et 9**, les chromatogrammes obtenus montrent qu'il y a une différence au niveau des profils chimiques des extraits aqueux et éthanolique de feuilles et des tiges.

L'identification des composés phytochimiques est présentée dans le **tableau 5 et 6**. Cette identification est basée sur la détermination de la masse molaire et le temps de rétention en comparaison avec les données trouvées dans la littérature. Les principaux composés présents dans les extraits de feuilles aqueux et éthanoliques sont : l'acide ferroyl-tartrique, la salvigénine le médiosinol, la rutine et la gallo-catéchine. Pour les extraits de tige on trouve : acide rosmarinique, Salvigenin, rutine, Vicenine et Quercitin-acetyl-O-glucoside. Cependant à côté de cette identification il y a d'autres composés qui ne sont pas déterminés. Ces données indiquent une différence dans la composition bioactive des tiges et de feuilles.

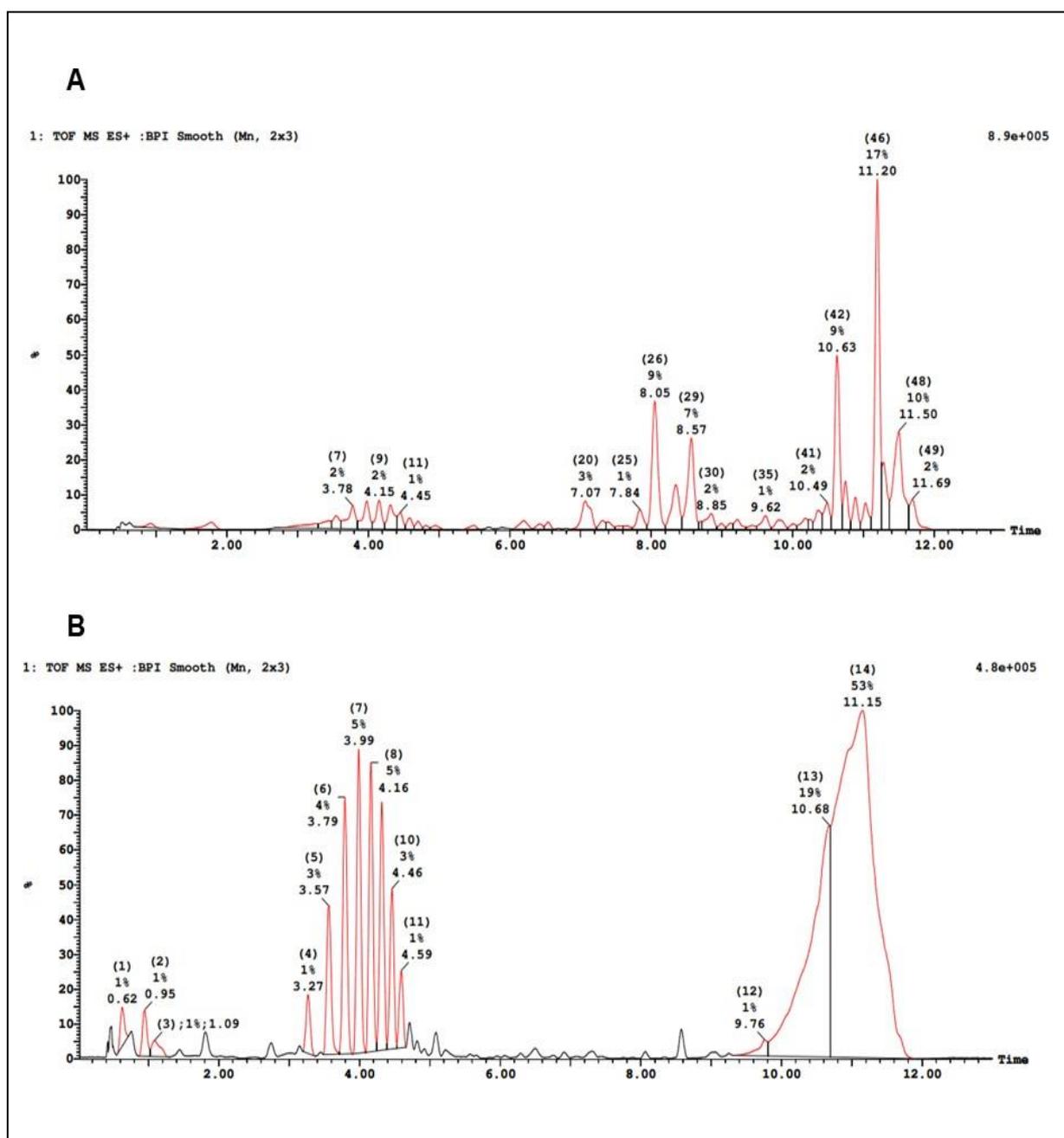


Figure 8 : chromatogramme des extraits de feuilles d'*Ocimum basilicum* (M-H+). (A) éthanoliques et (B) aqueux.

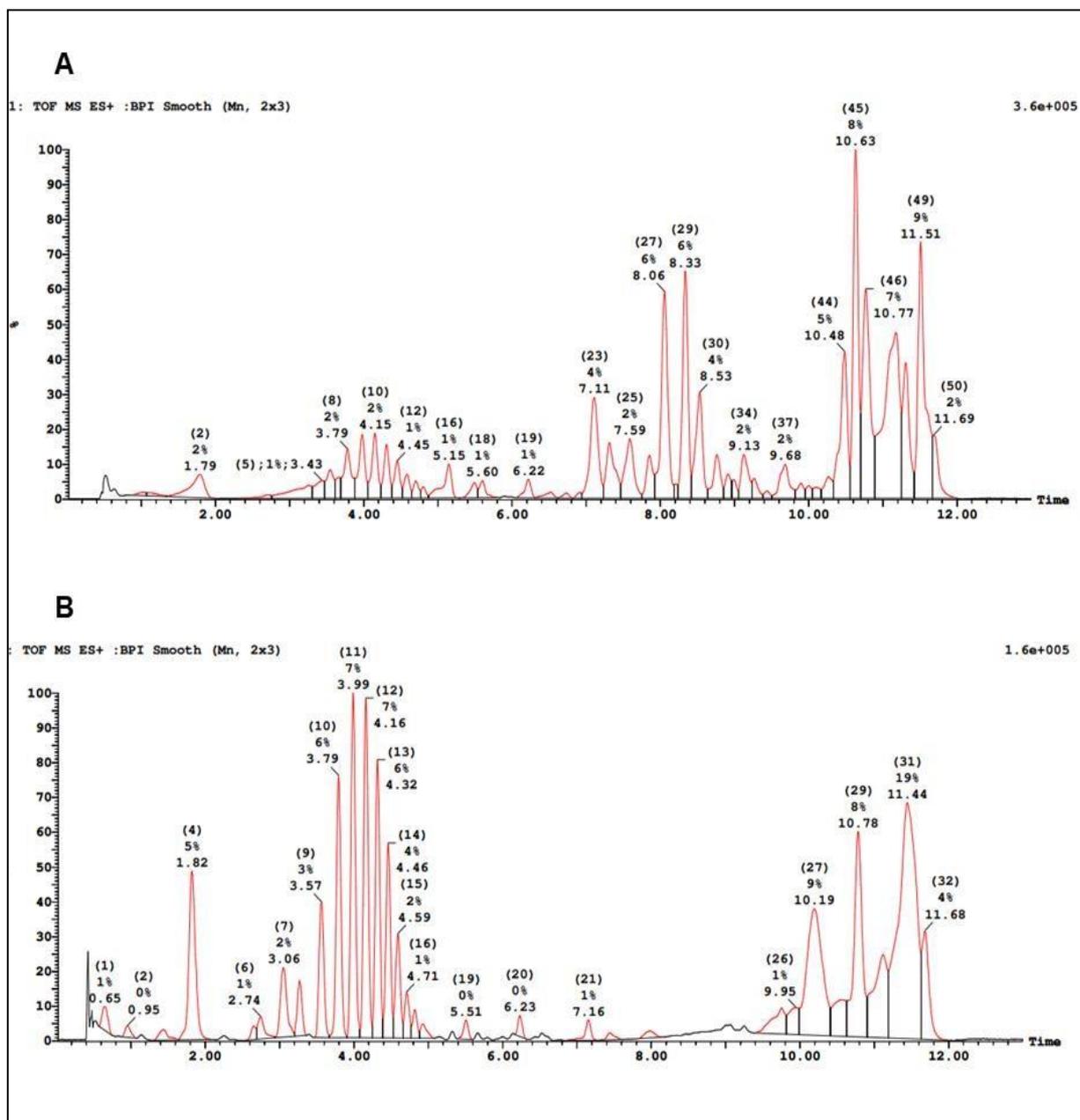


Figure 9: Chromatogramme des extraits de tiges d'*Ocimum basilicum* (M-H+). (A) éthanoliques et (B) aqueux.

Tableau 5 : Profil des composés chimiques dans l'extrait de feuilles d'*Ocimum basilicum*

RT (min)	M/Z	Aqueux	Ethanolique	Identification basée sur la bibliographie	Ref
0.62	328,1	x			
0,95	120,1	x			
1,09	608,2	x			
2,8	409,0	x			
3.25	305,2	x	x	(+)-Galocatechin	(Ma et al., 2004)
3,78	371,2	x	x	Medioresinole (Furanoide lignine)	Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020), (Jayasinghe et al. 2003)
3,99	415,3	x			
4,15	459,3	x	x		
4,31	503,3	x	x	luteolin acetyl-glucuronide	(Jayasinghe et al. 2003), (Ibrahim, Mansour, et Elkady 2020), (Lu et al. 2014)
4,45	547,3	x	x	5,50-Dihydroxy-d-sesamin-5- O-glucoside	(Ye, Yan, et Guo 2005)
4,59	591,4	x			
4,84	185,1	x			
4,95	349,1		x		
5,31	329,2	x		Trihydroxy octadecenoic acid (fatty Acid)	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020)
5,56	223,1	x			
5,49	435,1		x		
6,12	401,7		x		
6,21	351,2		x	Salvigenin(5-Hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone) (Flavon)	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020)
6,51	329,2	x	x	Trihydroxy octadecenoic acid (fatty Acid)	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020)
6,54	359,1		x	rosmarinic Acid	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020) , (Jayasinghe et al. 2003)
6,93	517,3	x		luteolin acetyl-glucuronide	(Jayasinghe et al. 2003), (Ibrahim, Mansour, et Elkady 2020), (Lu et al. 2014)

7,07	345,1		x	Eupatorin (3',5-Dihydroxy-4',6,7-trimethoxyflavone) Flavon	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020)
7,54	275,2		x		
7,84	364,3		x		
8,05	329,1		x	Trihydroxy Acid octadecenoic ((Fatty Acid)	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020)
8,15	215,2	x	x		
8,29	583,3	x			
8,57	325,1	x	x	feruloyltartaric acid	(Frag et al. 2016) (Prinsi et al., 2019)
8 .85	349,1		x		
9,62	325,1		x	feruloyltartaric acid	(Frag et al. 2016) (Prinsi et al., 2019)
9,97	483,3	x			
10	691,3		x		
10 .36	282 .27		x		
10,49	609,3		x	Rutin (flavonoid)	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020),(Ibrahim, Mansour, et Elkady 2020), (Lu et al. 2014),
10,63	593,3	x	x		
11,2	621,3	x	x		
11,5	394,3		x		
11,69	429,4		x		

Tableau 6 : Profil des composés chimiques dans l'extrait de tiges d'*Ocimum basilicum*

RT (min)	M/Z	Aqueux	Ethanolique	Identification based on bibliography	Ref
0,65	328,2	x			
1	191,1	x		isocitric / citric acid	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020)
1,79	188,1	x	x		
2,59	382,1	x			
2,74	261,1	x			
3,06	181,1	x			
3,43	371,2		x		
3,57	327,2	x		Salvigenin(5-Hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone) Flavones	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020)

3,61	351,1	x			
3,78	387,2	x	x	Medioresinole (Furanoide lignine)	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020),(Jayasinghe et al., 2003)
3,99	415,3				
4,15	459,3	x	x		
4,21	507,2	x		Quercitin-acetyl-O- glucoside	(Burducea et al., 2019)
4,32	503,3	x		luteolin acetyl- glucuronide	(Jayasinghe et al., 2003), (Ibrahim et al., 2020), (Lu et al., 2014)
4,45	547,3	x	x	5,50-Dihydroxy-d- sesamin-5- O- glucoside	(Ye et al., 2005)
4,59	591,4	x			
4,71	635,4	x			
4,82	187,1		x		
5,05	551,1	x			
5,14	359,1		x	Rosmarinic acid	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020) , (Jayasinghe et al. 2003)
5,51	435,1	x		Naringenin glucoside	(Prinsi et al., 2019)
5,6	314,1		x		
6,22	327,2	x	x	Salvigenin(5- Hydroxy-6,7,4'- trimethoxyflavone) Flavone	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020)
6,52	329,2	x	x	Trihydroxy octadecenoic acid (Fatty Acid)	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020)
7,11	316,3	x	x		
7,59	342,3		x		
7,73	483,3	x			
7,85	311,2		x	Caftaric acid	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020), (Jayasinghe et al., 2003), (Lee and Scagel, 2009)
8,06	329,1		x	Trihydroxy octadecenoic acid (fatty Acid)	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020)
8,22	476,3	x			
8,33	359,1		x	Rosmarinic Acid	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020) , (Jayasinghe et al. 2003)
8,48	293,2		x		

8,53	299,1		x	hydroxybenzoic acid-O- glucoside(salicylic acid-O-glucoside)	(Farag et al. 2016)
8,91	295,2		x	Cinnamyl malic acid	(Lee et Scagel 2009)
9	309,2	x			
9,13	311,2	x	x	caftaric acid	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020), (Jayasinghe et al., 2003)
9,68	324,3		x		
9,74	353,2	x	x	Chlorogenic acid	(Ye et al., 2005), (Ibrahim et al., 2020)
9,99	554,5	x	x		
10,19	780,5	x			
10,48	609,3		x	Rutin (flavonoid)	(Kumar, Bouic, et Rosenkranz 2020),(Ibrahim et al., 2020), (Lu et al., 2014),
10,63	593,3		x	Vicenin II (flavonoid)	(Farag et al. 2016)
10,77	593,3	x	x	feruloyltartaric acid	(Farag et al. 2016)
10,91	293,2	x			
11,5	394,3	x	x		
11,69	429,4	x	x		

3 Teneur totale en polyphénol

La teneur en polyphénols des extraits de basilic est mesurée par la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu, les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique (GAE mg /g) et présentée dans la **figure 10**. La teneur la plus élevée en composés phénolique est présentée par l'extrait éthanolique des feuilles d'*Ocimum basilicum* (54,79 GAE mg/g), tandis que la teneur la plus basse est dans l'extrait éthanolique de tiges (20,04 GAE mg/g). Les extraits aqueux de feuilles et de tiges (35,14 GAE mg/g), (30,75 GAE mg/g) ne présentent pas de différences significatives.

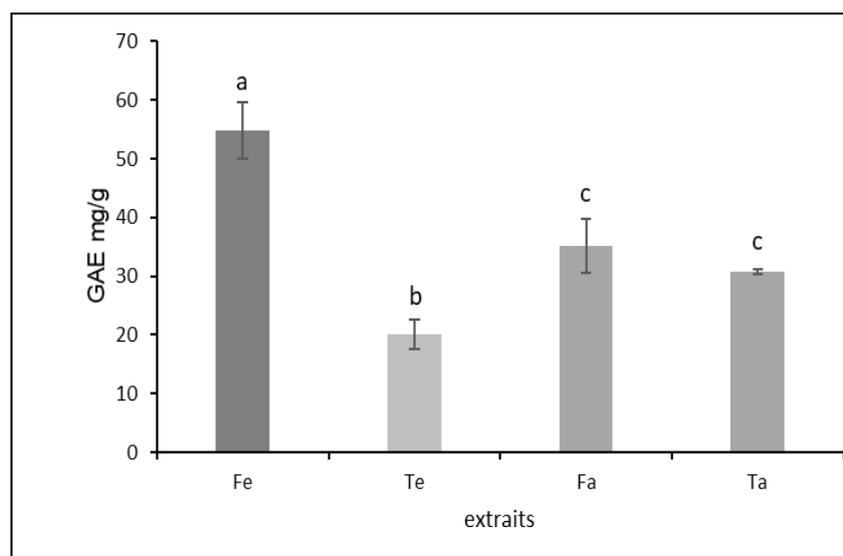


Figure 10 : Teneur totale en polyphénol des extraits d'*Ocimum basilicum*, Fe : extraits d'éthanolique des feuilles ; Te : extraits d'éthanolique des tiges ; Fa : extraits aqueux des feuilles ; Ta : extrait aqueux des tiges Les valeurs sont moyennes \pm SD (n=3).

4 Activité antioxydant des extraits d'*Ocimum basilicum*

Les extraits de nombreuses espèces de la famille des Lamiacées présentent un pouvoir antioxydant important, ils sont des piègeurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les ERO peuvent réagir avec diverses biomolécules dans les cellules, comme les lipides, les protéines et l'ADN et causer des dommages à ces molécules, ainsi un déséquilibre entre la production de ERO et les défenses antioxydantes qui peut entraîner des processus dégénératifs tels que le cancer, le vieillissement, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Stagos et al., 2012).

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydantes de différents composés naturels, pour les extraits d'*ocimum basilicum* nous avons utilisés deux méthode le test DPPH : 1,1-diphényl-2-picryl-hydroxyl et le test ORAC Oxygen Radical Absorbance Capacity.

4.1 Test DPPH

La capacité antioxydante des extraits d'*Ocimum basilicum* a été mesurée par le test DPPH, les résultats sont exprimés en Trolox équivalent μ mol TE/g extraits sec ainsi en % d'inhibition de DPPH. Les résultats du test DPPH (figure 11) montrent que la plus forte capacité antioxydante est présenté pour l'extrait éthanolique des feuilles (73,22 μ mol TE/g es) avec une % d'inhibition de DPPH 39,96%, suivi par l'extrait éthanolique des tiges (70,66 μ mol TE/g es) et 39,39%. En revanche les extraits aqueux de feuilles et de tiges ont présenté une capacité

antioxydante plus faible (27,87 et 28 $\mu\text{mol TE/g es}$) respectivement avec 17,66% et 16,96%. Les extraits éthanoliques ont une capacité antioxydante de piégeage des radicaux libre plus important par rapport aux extraits aqueux, et au niveau statistique il existe une différence significative.

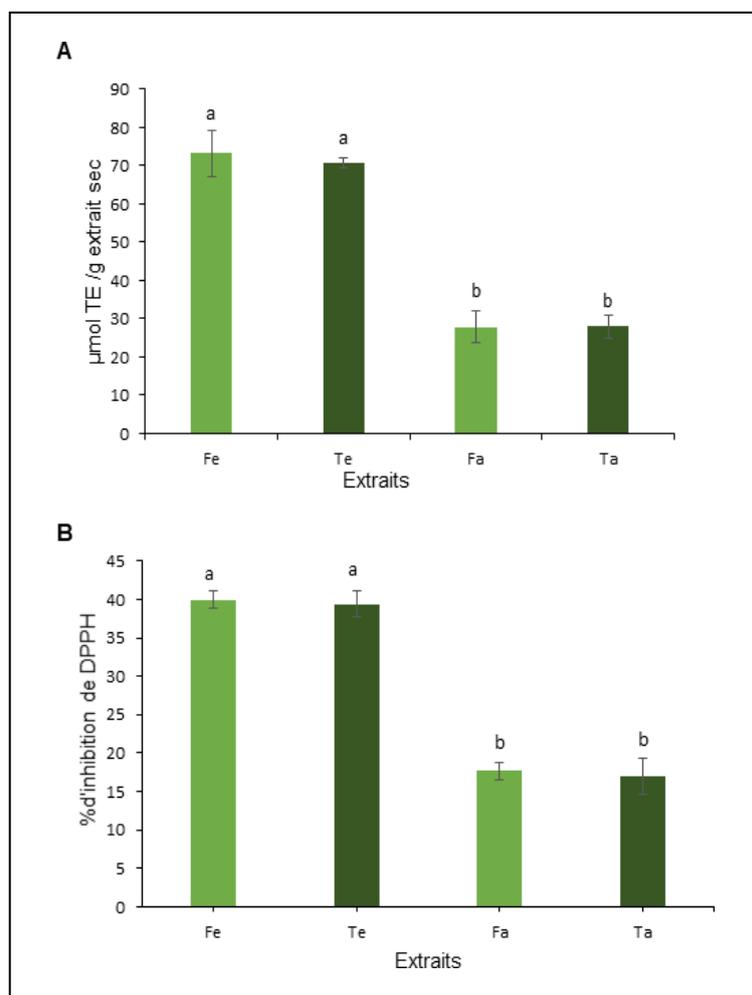


Figure 11 : Activité antioxydantes des extraits d'*Ocimum basilicum* évalué par test DPPH, **A**) concentration équivalent Trolox, **B**) % d'inhibition de DPPH. Fe : extraits d'éthanolique des feuilles ; Te : extraits d'éthanolique des tiges ; Fa : extraits aqueux des feuilles ; Ta : extrait aqueux des tiges Les valeurs sont moyennes \pm SD (n=3).

4.2 Test ORAC

Diverses méthodes ont été développées pour mesurer la capacité des antioxydants à piéger les radicaux libres. Pour les radicaux dits oxygène, la méthode de capacité d'absorption des radicaux oxygénés (ORAC) est largement utilisée pour mesurer l'activité antioxydante dans les aliments (Sueishi et al., 2011).

Les résultats de l'évaluation de la capacité antioxydantes des extraits de Basilic par le test ORAC sont présentés dans la **figure12**. Ils sont exprimés en μ mol TE/ μ g extraits sec. Les résultats montrent que l'activité antioxydante la plus élevée est présente pour l'extrait éthanolique des feuilles (2,45 μ mol TE/ μ g es). L'extrait éthanolique des tiges (1,29 μ mol TE/ μ g es) et l'extrait aqueux des feuilles (1,48 μ mol TE/ μ g es) ont présenté une activité antioxydante moins importante et l'extrait aqueux des tiges a présenté la plus faible activité antioxydante.

Selon les statistiques des résultats de test ORAC il existe une différence significative entre l'extrait éthanolique des feuilles, les deux extraits éthanoliques des tiges et aqueux des feuilles ainsi l'extrait aqueux des tiges. Cependant il n'y pas de différence significative entre les deux extraits éthanoliques des tiges et aqueux des feuilles.

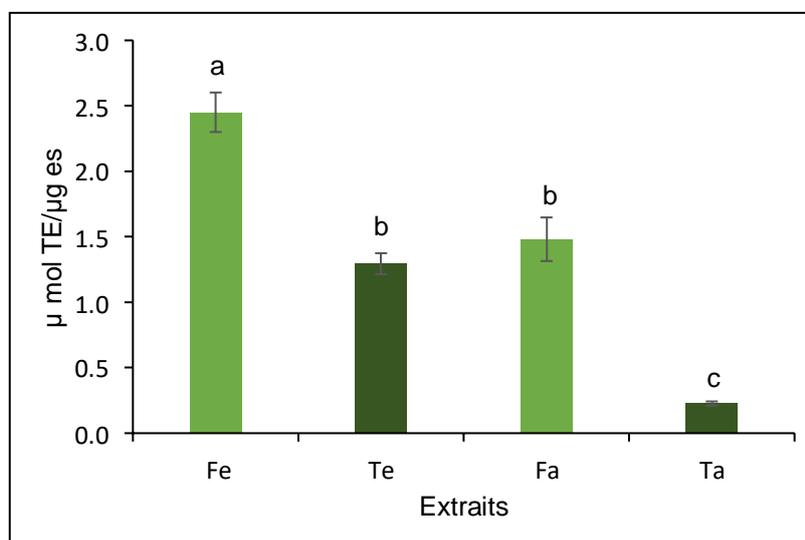


Figure 12 : Activité antioxydantes des extraits d'*Ocimum basilicum* évalué par test ORAC, Fe : extraits éthanolique des feuilles ; Te : extraits éthanolique des tiges ; Fa : extraits aqueux des feuilles ; Ta : extrait aqueux des tiges Les valeurs sont moyennes \pm SD (n=3).

4.3 L'activité de piégeage du NO des extraits éthanolique d'*Ocimum basilicum*

L'évaluation de l'activité de piégeage du NO par les extraits éthanoliques des feuilles et des tiges de Basilic ont montré une capacité de piéage plus important et significative à différente concentration de manière effet dose.

L'activité de piégeage de NO par l'extraits éthanolique des feuilles était de 51,02% à 11,6% pour les concentrations (200 à 50 µg/mL) respectivement. D'autre part l'extrait éthanolique des tiges a montré des % de scavenging de 47,79 % à 11,35%. **Figure 13**

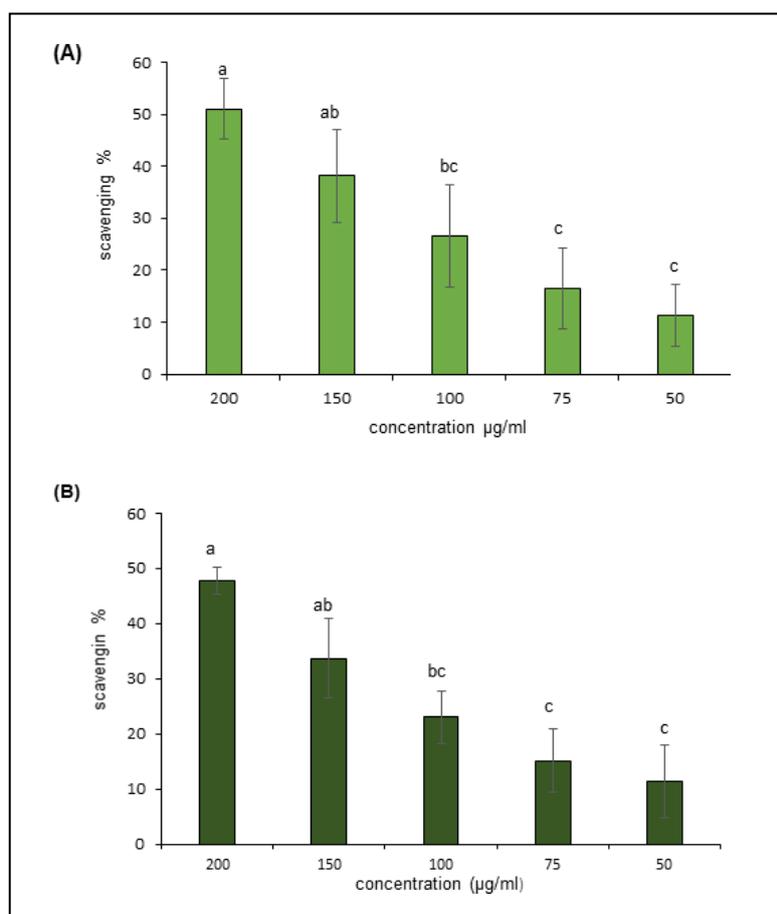


Figure 13 : Effet des extraits d'*Ocimum basilicum* sur la capacité de piégeage de l'oxyde nitrique NO
A) l'extrait éthanolique des feuilles ; **B)** l'extrait éthanolique des tiges. Les valeurs sont moyennes \pm SD (n = 3)

5 Activité anti-inflammatoire des extraits d'*Ocimum basilicum*

5.1 Effet des extraits éthanolique d'*Ocimum basilicum* sur la viabilité cellulaires

Afin d'évaluer les activités anti-inflammatoires des extraits d'*Ocimum basilicum*, nous avons vérifié ces effets sur la viabilité cellulaire des cellules macrophages J774, en utilisant la méthode MTS /PMS.

Le traitement des cellules macrophages J774 avec différentes concentrations d'extraits éthanolique des tiges et des feuilles a montré que les absorbances étaient similaires à celle de cellule témoin **figure14**, cela signifie que les cellules sont viables après traitement avec les extraits pendant 24h et qu'il y pas un effet cytotoxique même à la plus forte concentration (200 $\mu\text{g/mL}$).

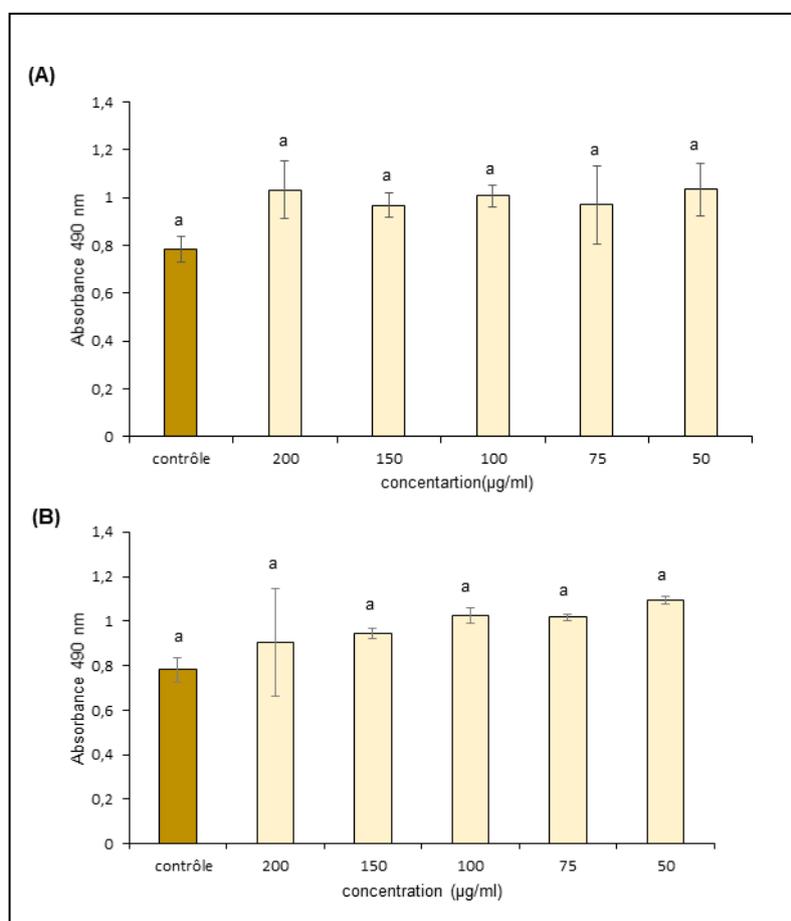


Figure 14 : Effet des extraits d'*Ocimum basilicum* sur la viabilité cellulaire, **A**) l'extrait éthanolique des feuilles ; **B**) l'extrait éthanolique des tiges. Les valeurs sont moyennes \pm SD (n = 3).

5.2 Effet des extraits éthanolique d'*ocimum basilicum* sur la production du NO

L'oxyde nitrique (NO) est identifié comme un agent vasodilateur et à des multiples fonctions et rôles physiologique et physiopathologiques complexes, entre autres l'interaction du NO avec l'oxygène favorise le développement de lésion tissulaires et cellulaires oxydatives. La production élevée du NO par les cellules inflammatoires tel que les macrophages, les fibroblastes, les cellules musculaires lisses et les hépatocytes accélèrent la formation des espèces réactives de l'azote, et endommage les macromolécules cellulaires telles que les protéines, l'ADN et les lipides, et déclenche de nombreuses réponses cellulaires néfastes. (Tsai et al., 2007).

Pour évaluer l'effet antiinflammatoire des extraits éthanoliques des feuilles et des tiges de basilic sur la production du l'oxyde nitrique NO, nous avons utilisé comme modèle cellulaires des macrophages J774, stimulés par le LPS/IFN et dosé par la méthode colorimétrique de Gries.

Les macrophages J774 non traités ont donné une production basale de NO 2,46 μmol , les cellules stimulées par l'association LPS/IFN ont induit une production importante de 15,17 μmol de NO en comparaison avec les cellules non traitée (contrôle). Alors que l'extrait éthanolique de feuilles a montré une production plus faible de NO avec des valeurs de 6,9 μmol a (13 ,33 μmol) et une inhibition significative de manière concentration dose dépendante avec une % d'inhibition plus élevé 56,95% à la concentration 200 $\mu\text{g/ml}$ **figure 15**.

L'extrait éthanolique des tiges d'*Ocimum basilicum* a montré une faible production du NO sur les cellules macrophages J774 stimulé LPS/IFN avec une inhibition plus importante de 66,18 à 12,17 %, de manière significative de concentration dose dépendent, la valeur maximale été de 18 ,06 μmol à la concentration (200 $\mu\text{g/ml}$) **figure 16**.

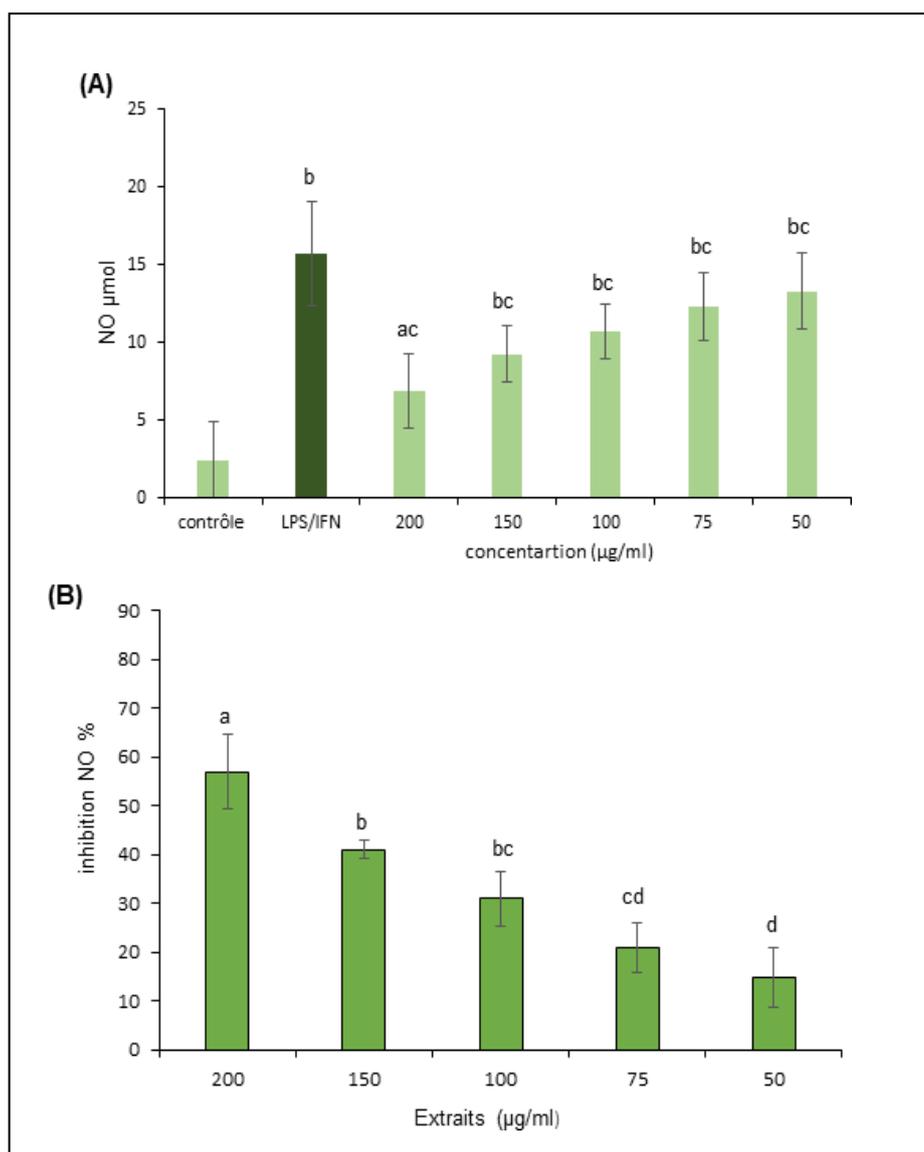


Figure 15 : Effet d'extrait éthanolique des feuilles d'*Ocimum basilicum* sur, **A)** la production d'oxyde nitrique, **B)** % inhibition de NO. Les valeurs sont moyennes \pm SD (n = 3).

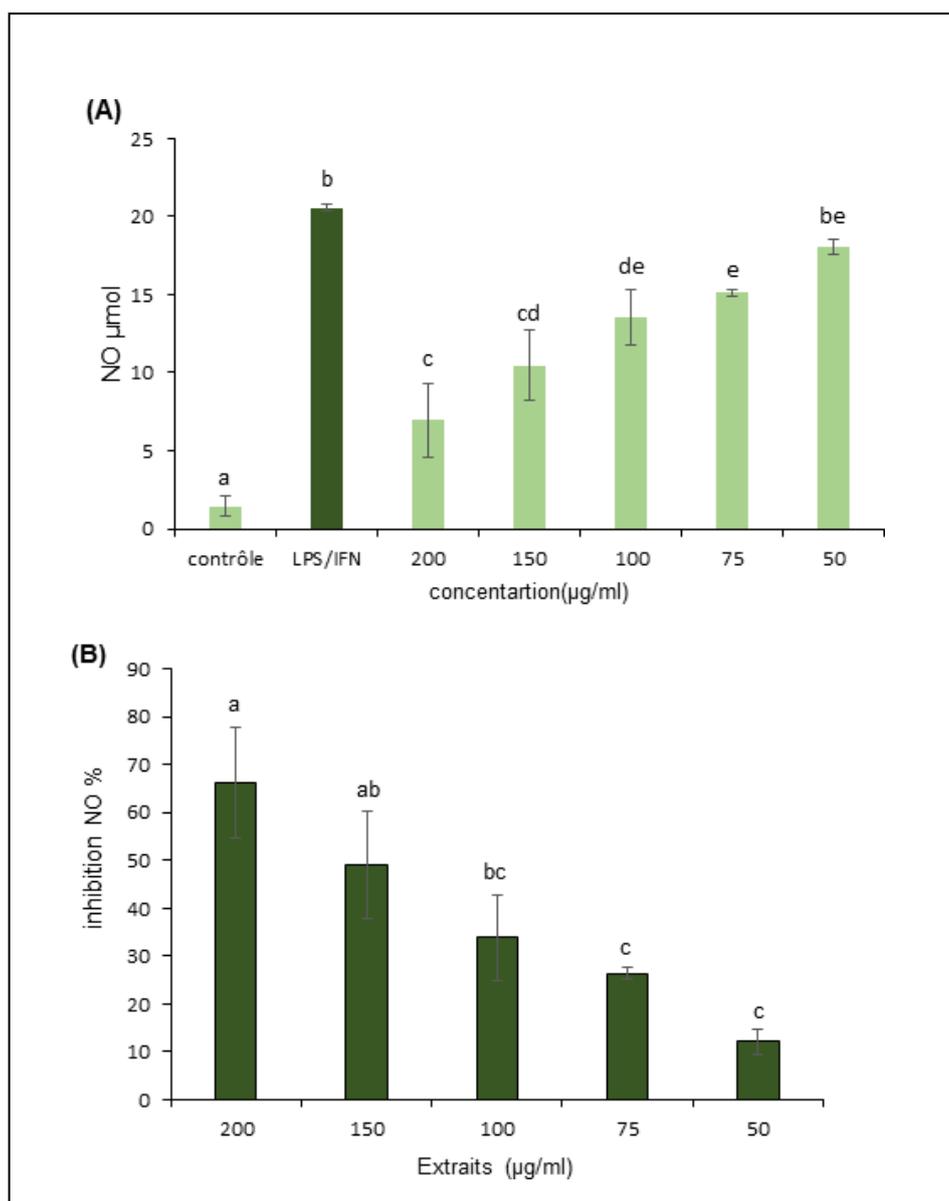


Figure 16 : Effet d'extrait éthanolique des tiges d'*Ocimum basilicum* sur, **A)** la production d'oxyde nitrique, **B)** % inhibition de NO. Les valeurs sont moyennes \pm SD (n = 3).

5.3 Effet des extraits éthanolique d'*Ocimum basilicum* sur la production d'IL6

Pour l'évaluation de l'activité antiinflammatoire des extraits éthanoliques de feuilles et tiges de basilic, nous avons évalué ces effets sur la cytokines pro-inflammatoire interleukine (IL-6) dans un modèle de macrophages J774, stimulés par le LPS/IFN et prétraité avec différentes concentrations d'extraits, l'analyse était faite sur des surnagent de 24h de stimulation par le LPS/IFN et les surnagent ont été dosé par une méthode Elisa sandwich.

Les résultats de la **figure 17** montre que l'extrait éthanolique des feuilles de basilic a diminué la production d'IL6 de 118,35 à 259,1 pg/ml, par rapport aux cellules LPS/IFN 321,63 pg/ml, l'inhibition était de manière dose dépendante avec une valeur maximale d'inhibition 62,43 % à la plus forte concentration.

L'extrait éthanolique des tiges de basilic a inhibé la production d'IL-6 de manière dose dépendent, à la concentration 200 µg/ml l'inhibition était de 88,87 % presque la totalité, d'autre part les concentrations d'IL-6 était de 36,39 à 100,02 pg/mL avec une différence très significative par rapport au témoin LPS/IFN 336,13 pg/mL **figure 18**

Les résultats suggèrent que les deux extraits éthanoliques de basilic feuilles et tiges ont un effet anti-inflammatoire sur la production d'IL6 mais l'extrait éthanolique des tiges a présenté le plus fort effet inhibiteur.

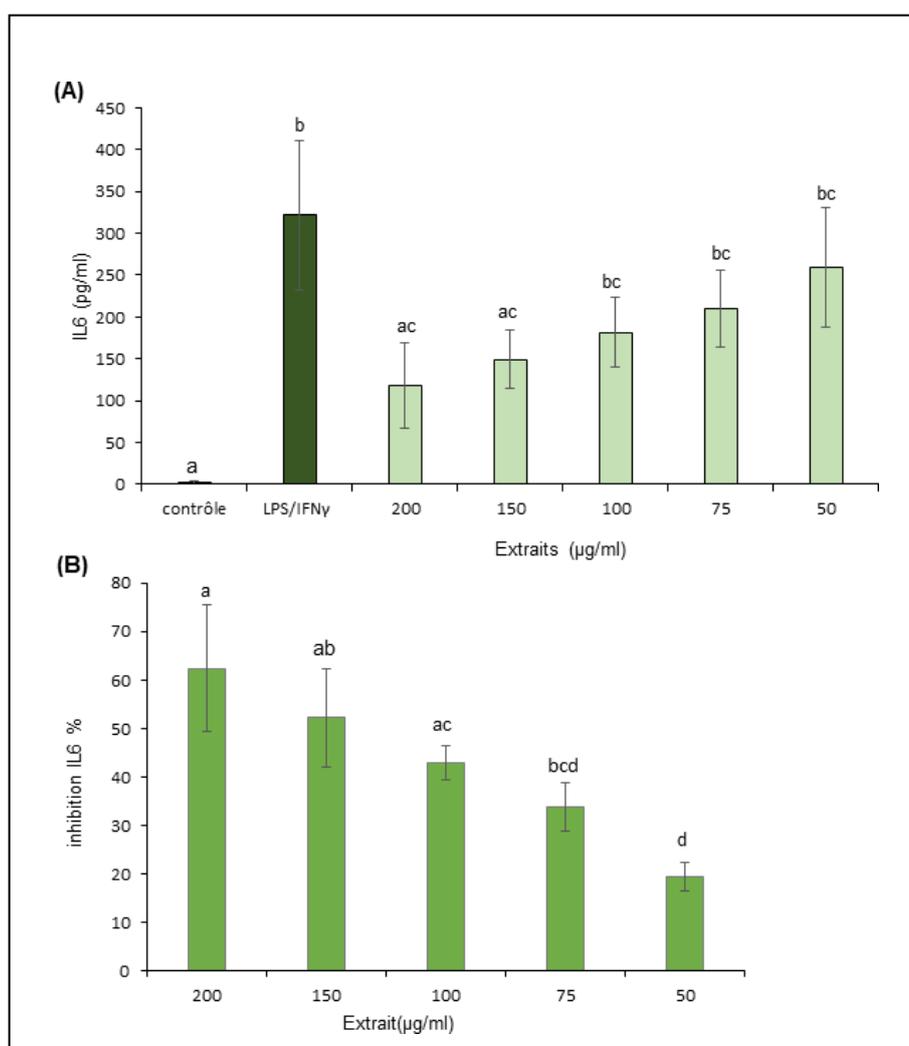


Figure 17 : Effet d'extrait éthanolique des feuilles d'*ocimum basilicum* sur, **A)** la production d'IL6, **B)** % inhibition d'IL6. Les valeurs sont moyennes \pm SD (n = 3)

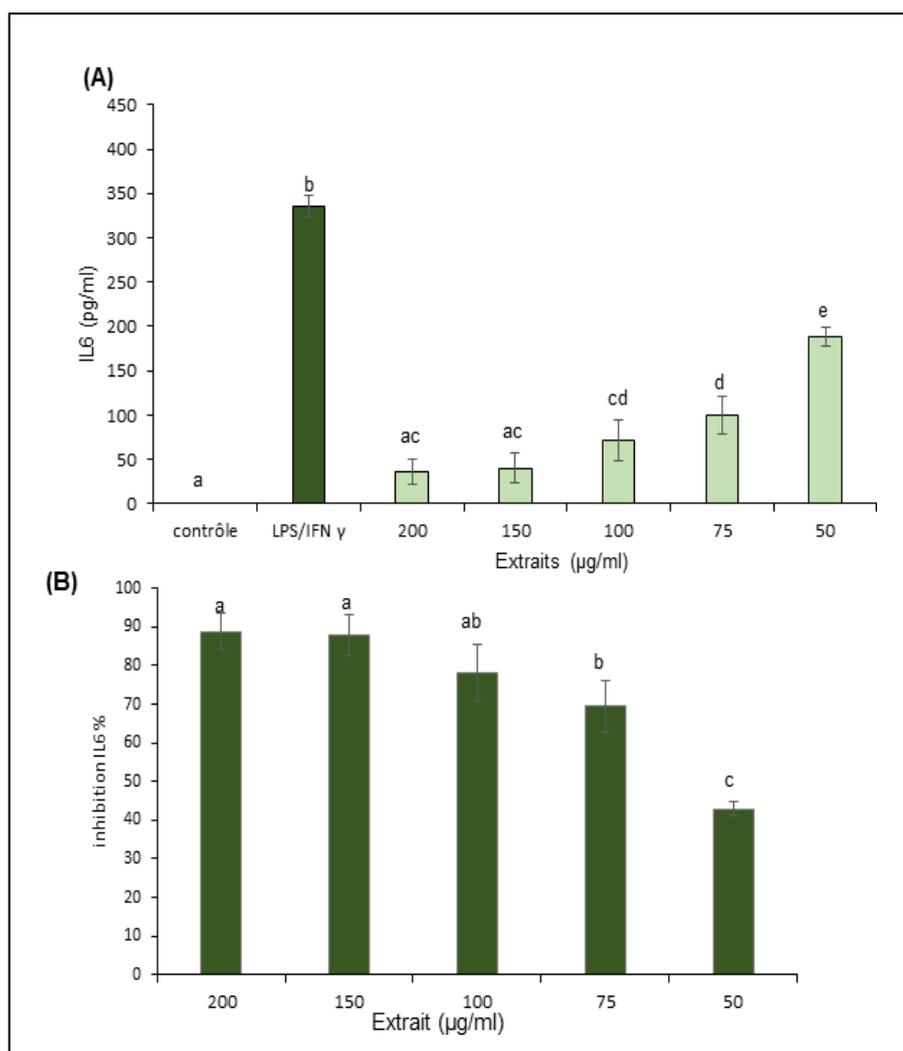


Figure 18 : Effet d'extrait éthanolique des tiges d'*ocimum basilicum* sur, **A**) la production d'IL6, **B**) % inhibition d'IL6. Les valeurs sont moyennes \pm SD (n = 3).

5.4 Effet des extraits éthanolique d'*ocimum basilicum* sur la production de TNF α

Les résultats obtenus dans la **figure19** représentent l'effet des extraits de basilic sur la production de TNF α . On observe que l'extrait éthanolique des feuilles a augmenté la production de TNF α de manière similaire aux cellules stimulés par LPS /IFN γ .

Les différentes concentrations de l'extrait éthanolique des tiges ont également augmenté la production de TNF α de manière significative de 1423 à 1582 pg/ML en comparaison avec LPS/IFN γ 1160 pg/mL.

Les résultats suggèrent que les deux extraits éthanoliques de tiges et de feuilles n'ont pas diminué la production du TNF α . Ils l'ont augmenté de manière significative.

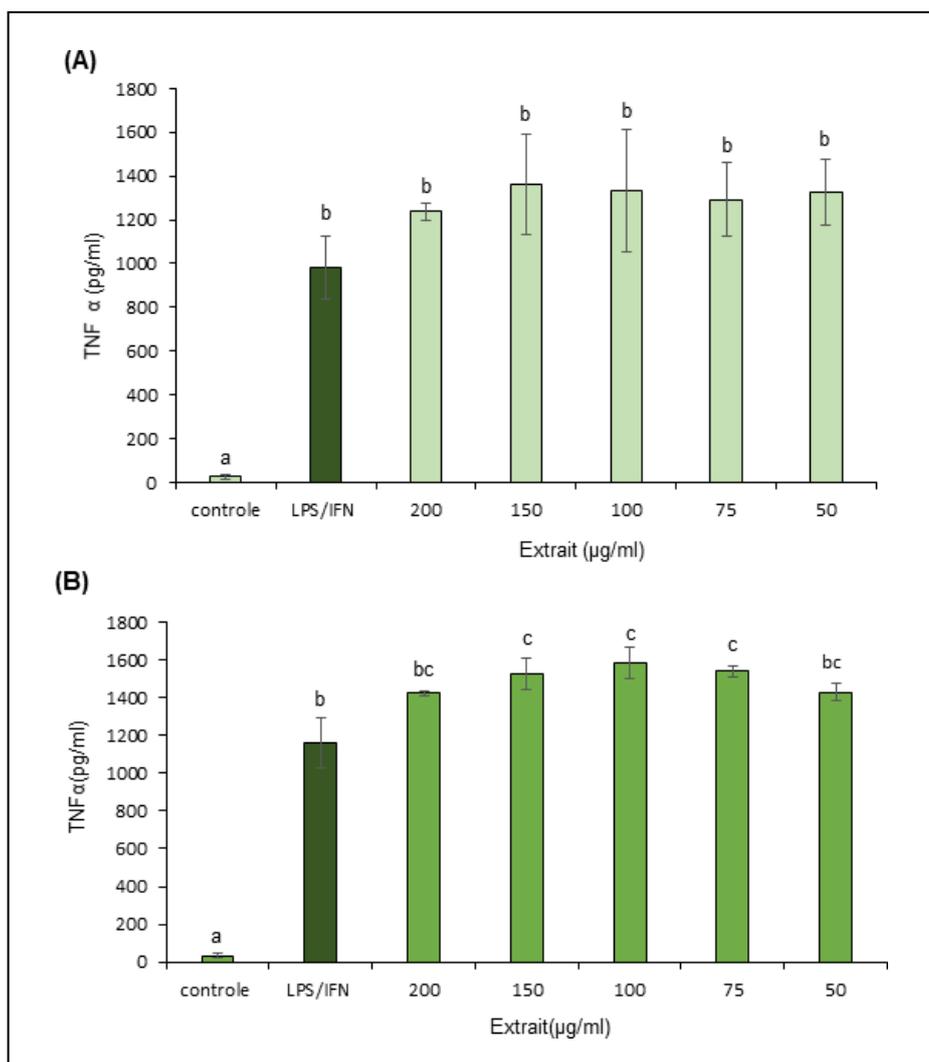


Figure 19 : Effet des extraits d'*Ocimum basilicum* sur la production du TNFα, **A)** l'extract éthanolique des feuilles ; **B)** l'extract éthanolique des tiges. Les valeurs sont moyennes ± SD (n = 3).

5.5 Effet des extraits éthanolique d'*Ocimum basilicum* Sur la production de MCP 1

La **figure 20** montre les résultats obtenus de l'évaluation de l'effet des extraits éthanoliques de basilic sur la production de MCP1, l'extract des tiges a diminuée la production de MCP1 de manière dose dépendante à la concentration 200 et 150 µg/ml avec des valeurs d'inhibition allant de 54,22 à 23,78% respectivement. Par contre l'extraits des feuilles n'a réduit la production de MCP1 qu'à la plus forte concentration 200µg/mL avec 2028,33pg/ml par rapport au LPS/IFNγ 2378,33 et le % inhibition était faible (environ 14 ,73%).

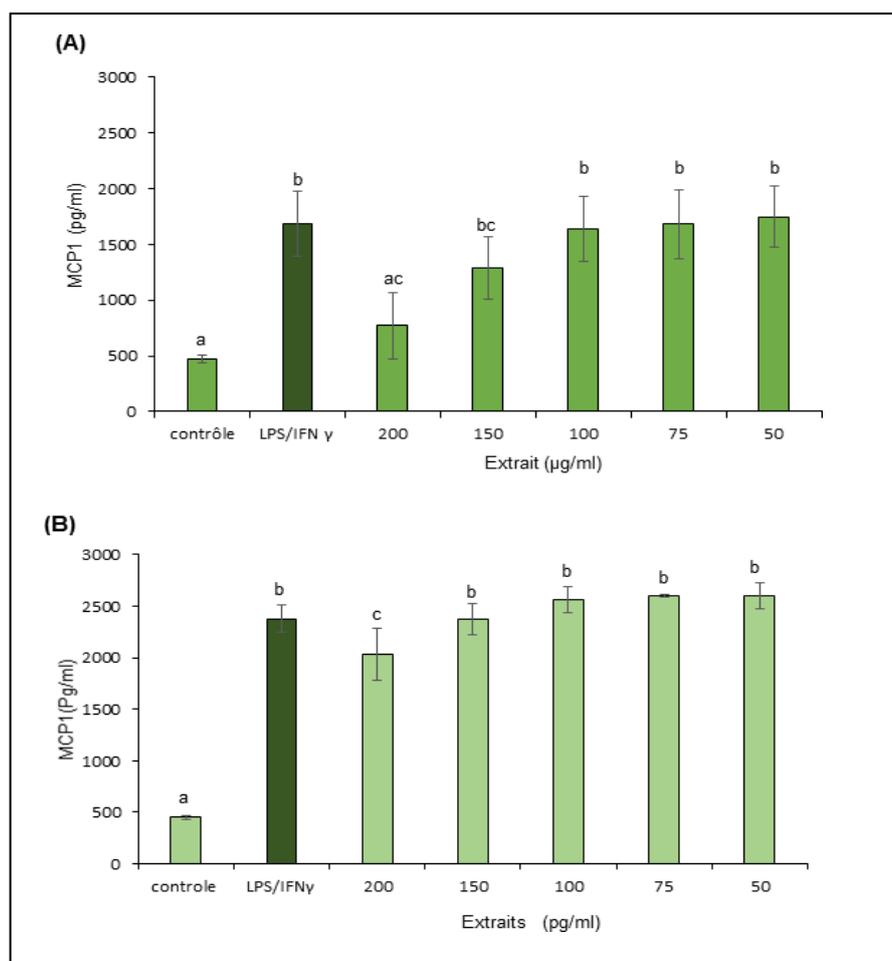


Figure 20 : Effet des extraits d'*Ocimum basilicum* sur la production du MCP1, **A)** l'extrait éthanolique des tiges ; **B)** l'extrait éthanolique des feuilles. Les valeurs sont moyennes \pm SD (n = 3).

5.6 Effet de l'extrait éthanolique des tiges d'*ocimum basilicum* Sur la production de PGE2

Prostaglandine E₂ (PGE₂) est un lipide bioactif qui provoque un large éventail d'effets biologiques associés à l'inflammation et au cancer. PGE₂ exerce divers effets sur la prolifération cellulaire, l'apoptose, l'angiogenèse, l'inflammation et la surveillance immunitaire. (Nakanishi and Rosenberg, 2013).

Les PGE₂ ont été dosés dans des surnageants après 24h de stimulation, et prétraités avec l'extrait éthanolique des tiges. Les résultats présentés dans la **figure 21** ont montré qu'il y a une augmentation de la production des PGE₂ par les cellules stimulées par le LPS/IFN γ 70,30 pg/ml. L'extrait éthanolique des tiges a induit une inhibition de la production des PGE₂ de manière dose dépendante avec des pourcentages allant de 62,88 à 38,62% respectivement aux concentrations 200µg/ml et 100 µg/ml.

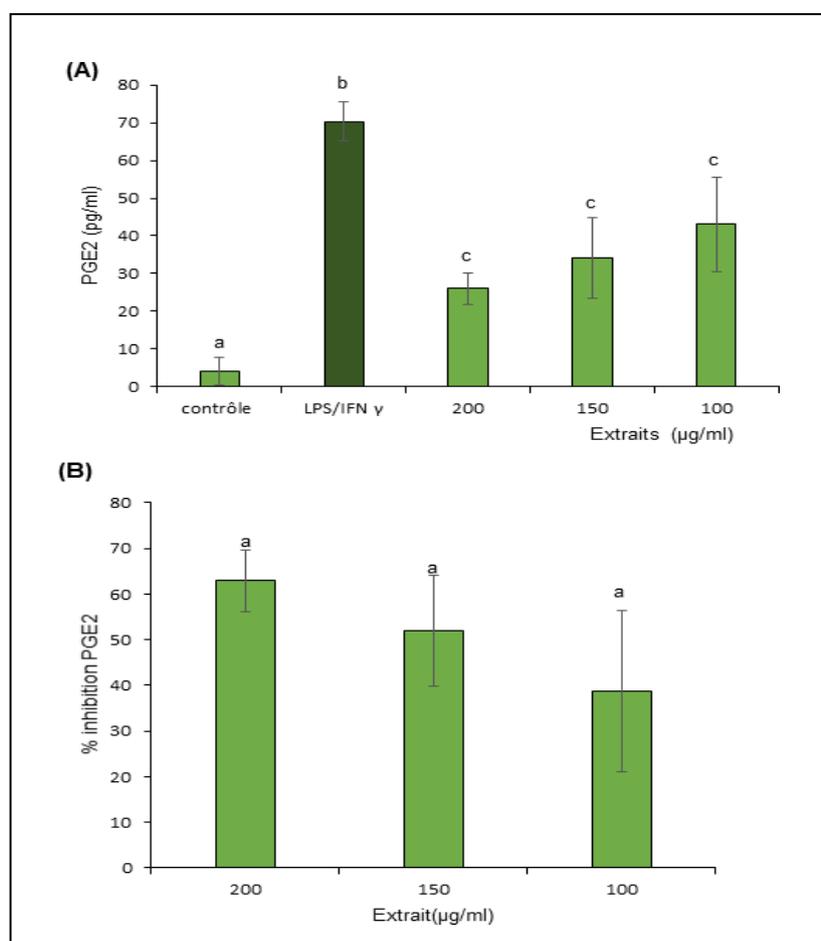


Figure 21 : Effet d'extrait éthanolique des tiges d'*Ocimum basilicum* sur, **A)** la production de PGE2, **B)** % inhibition de PGE2. Les valeurs sont moyennes \pm SD (n = 3).

6 Effet antispasmodique des extraits aqueux d'*Ocimum basilicum*

Pour l'évaluation de l'activité antispasmodique des extraits aqueux des feuilles et des tiges de basilic, nous avons évalué ces effets relaxants sur le jéjunum de rat par contraction au BaCl₂ et méthacoline. Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 22**, l'aminophylline a induit une relaxation des segments de jéjunum, les extraits aqueux de feuilles et tiges ont démontré une relaxation de manière dose dépendante avec la contraction induit par le BaCl₂ et /ou la méthacholine.

La plus forte concentration d'extraits aqueux de feuilles a enregistré 100% de relaxation et 90% avec l'extraits des tiges lors de contraction par le BaCl₂.P pour les concentrations les plus faible le % de relaxation le plus élevé est enregistré par les extraits de feuilles de 57,8% et

40,8% avec BaCl₂ et méthacholine respectivement. Cependant les tiges ont enregistré des valeurs moins importantes par rapport au feuilles 34,5% et 33,1%.

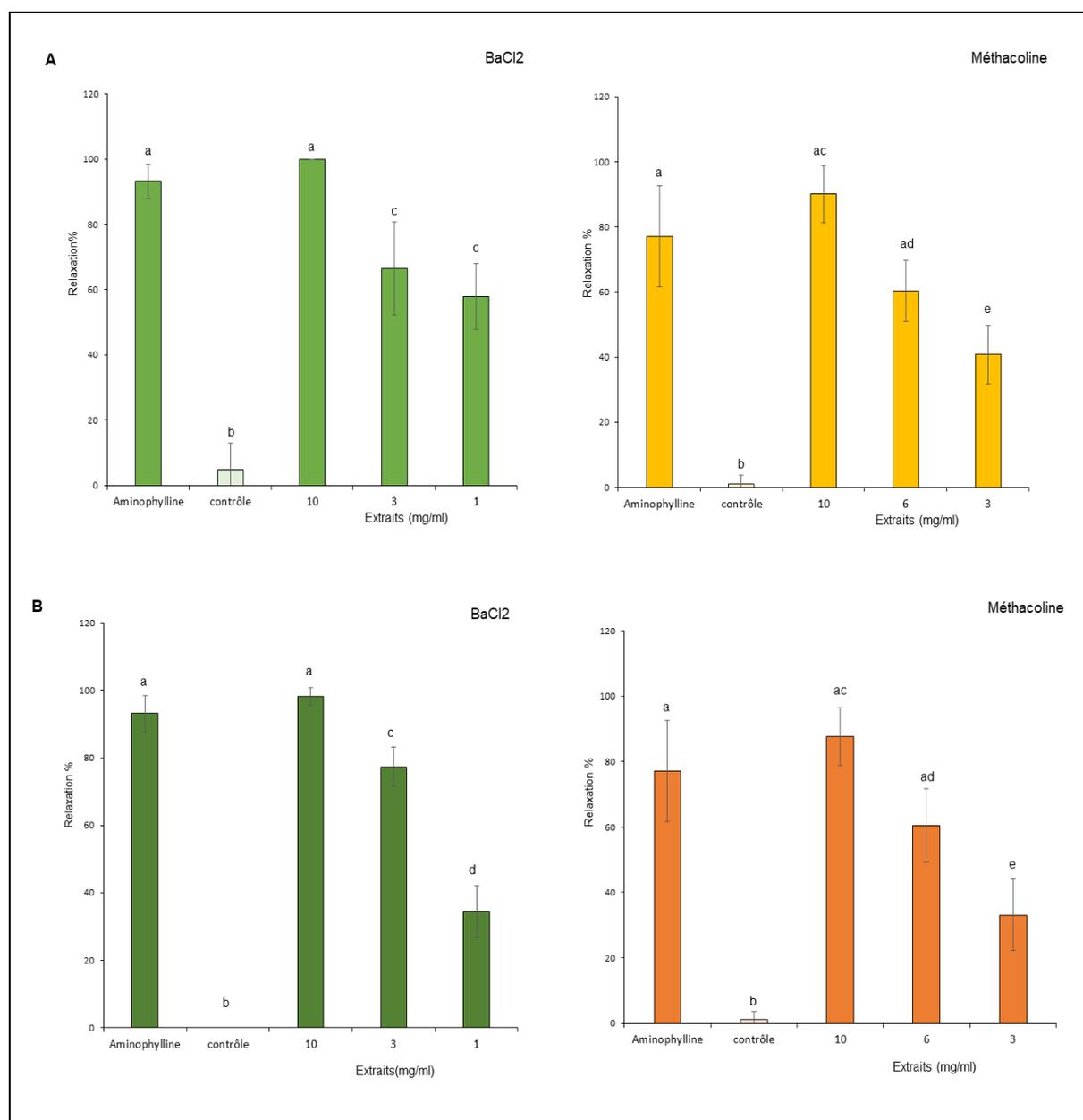


Figure 22 : Effet des extraits d'*Ocimum basilicum* sur les de jéjunum des rats stimulés par le chlorure de baryum (BaCl₂) ou la méthacholine. (A) les extraits aqueux des feuilles, (B) les extraits aqueux des tiges. Les valeurs sont moyennes \pm SD (n = 6).

PUBLICATION

Article

Differential Nutrition-Health Properties of *Ocimum basilicum* Leaf and Stem Extracts

Aicha Bensaid ¹, Frederic Boudard ¹, Adrien Servent ¹, Sylvie Morel ², Karine Portet ¹, Caroline Guzman ¹, Manon Vitou ², Florence Bichon ¹ and Patrick Poucheret ^{1,*}

¹ Qualisud, University Montpellier, Avignon Université, CIRAD, Institut Agro, IRD, Université de La Réunion, 34000 Montpellier, France; aichatsnime826@gmail.com (A.B.); frederic.boudard@umontpellier.fr (F.B.); adrien.servent@cirad.fr (A.S.); karine.portet@umontpellier.fr (K.P.); caroline.guzman@umontpellier.fr (C.G.); florence.bichon@umontpellier.fr (F.B.)

² Laboratoire de Botanique, Phytochimie et Mycologie, CEFE, CNRS-Université de Montpellier-Université Paul-Valéry Montpellier-EPHE-IRD, 34000 Montpellier, France; sylvie.morel@umontpellier.fr (S.M.); manon.vitou@umontpellier.fr (M.V.)

* Correspondence: patrick.poucheret@umontpellier.fr; Tel.: +33-1-4-11-75-95-07

Citation: Bensaid, A.; Boudard, F.; Servent, A.; Morel, S.; Portet, K.; Guzman, C.; Bichon, F.; Poucheret, P. Differential Nutrition-Health Properties of *Ocimum basilicum* Leaf and Stem Extracts. *Foods* **2022**, *11*, 1699. <https://doi.org/10.3390/foods11121699>

Academic Editor: Rubén Domínguez

Received: 26 April 2022

Accepted: 27 May 2022

Published: 9 June 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: (1) Background: *Ocimum basilicum* L. is an aromatic medicinal plant of the Lamiaceae family known as sweet basil. It is used in traditional medicine for its beneficial effects on gastrointestinal disorders, inflammation, immune system, pyrexia or cancer among others. *Ocimum basilicum* (OB) leaf extracts contain many phytochemicals bearing the plant health effects but no reports is available on the potential bioactivity of stem extracts. Our investigation aimed at assessing the differential biological activity between basil leaf and stem to promote this co-product valorization. (2) Method: For this purpose we explored phytochemical composition of both parts of the plant. Antioxidant activity was evaluated through total polyphenol content measure, DPPH and ORAC tests. Anti-inflammatory markers on stimulated macrophages, including NO (nitric oxide), TNF α (tumor necrosis factor alpha), IL-6 (interleukin 6), MCP1 (monocyte attractant protein 1) and PGE-2 (prostaglandin E2), were evaluated. In addition, we investigated OB effects on jejunum smooth muscle contractility. (3) Results: OB extracts from leaves and stems demonstrated a different biological activity profile at the level of both antioxidant, anti-inflammatory and smooth muscle relaxation effects. (4) Conclusion: Taken together our results suggest that *Ocimum basilicum* extracts from co-product stems, in addition to leaves, may be of interest at the nutrition-health level with specific therapeutic potential.

Keywords: *Ocimum basilicum*; stems; leaves; nutrition; health; anti-oxidant; anti-inflammatory; antispasmodic

1. Introduction

Ocimum basilicum L. is an aromatic medicinal plant belonging to the Lamiaceae family known as sweet basil and is also called the king of the herbs [1]. It is an annual plant widely distributed and cultivated around the world. This herb genus, encompassing over 100 aromatic species, is native to Asia, India, Africa, South America. Basil has found a wide range of applications in various fields such as in the traditional medicine, pharmaceutical, cosmetical, nutraceutical and food industries [2,3]. Its aromatic profile makes it a very common spice for meal preparation in various cultures to provide aroma and flavor [4]. The most used parts of the plant are the leaves and the seeds. Leaves may be used for cooking, production of essential oils and as a component of various beverages. Seeds are integrated as a functional ingredient in food and non-food product processing. Conversely, stems are seldom reported for their use. They may find application in food flavoring [5,6] and one reference indicates a traditional medicine usage [1].

The health effects of *Ocimum basilicum* L. (OB) are recognized and described in the scientific literature. It contains over 200 bioactive phytochemical compounds from various families. In addition to macronutrients, carbohydrate, lipids, proteins and mucilages, basil contains micronutrients including vitamins, minerals, and secondary metabolites such as polyphenols, flavonoids, flavones. It also contains essential oil with terpenic compounds, monoterpene and sesquiterpenes, i.e., linalool, limonene, geraniol, caryophyllene and alpha-cadinol [7]. Basil secondary metabolites and more specifically phenolic bioactive compounds have been explored. Among the main flavonoids molecules found in basil, quercetin and rutin are the most represented, along with catechin, kaempferol and luteolin. The major phenolic compounds found in OB are reported to be rosmarinic acid followed by caffeic acid derivatives. The main derivatives are usually chicoric, caftaric, caffeic, coumaric, gallic and chlorogenic acids [8].

Health benefits attributed to *Ocimum basilicum* L. rely on its content of secondary metabolites, i.e., phenolic and flavonoid compounds. OB leaf bioactivities are the most frequently described in the scientific literature and in traditional medicine [1,9]. The therapeutic potentials of leaf extracts appear quite diverse. They are used for headache, respiratory tract inflammation (sore throat, laryngitis, bronchitis), IBD (Intestinal Bowel Disease), kidney dysfunction, and as anti-pyretic and anti-cancer agents, among others applications [10–12]. In addition, OB extracts appear to generate beneficial pharmacological effects as antioxidant, anti-inflammatory, analgesic and antispasmodic agents. They act on metabolic and immune diseases with chronic inflammation such as metabolic syndrome and intestinal bowel diseases [13–15].

The bioactivities of plant extracts are known to be influenced by the accession type, growing conditions, and harvest period during the year [16,17]. Indeed, geography, pedology and season modulate the quality and relative quantities of phytochemical compounds, and therefore the optimal yield of active principles, thereby altering the health effect potential [18]. In the same perspective, as reported by Asgari-Lajayer *et al.*, elicitation (such as decontaminated sewage sludge intrans) may also selectively induce plant metabolic pathways. This would generate specific phytochemical profile with intended bioactivities [19]. In addition, the choice of the subparts sampled from the plant may be a determinant of the bioactivity profile. Each part of a vegetal may have a specific qualitative and quantitative chemical profile due to differential distribution of phytochemicals as a function of organ role and proper metabolic pathways [20,21]. In this context, each part of a vegetable may bear differential bioactivity, putatively making it possible to address specific pharmacological objectives and to valorize plant subparts otherwise considered to be low-value co-products.

Most studies on basil species focused on leaves and essential oils. A few reports explored stems antioxidant and/or anti-inflammatory properties of *Ocimum sanctum* L and *Ocimum Americanum* L respectively [22–24]. Regarding anti-spasmodic properties, they were studied on ileum with *Ocimum gratissimum* L and *Ocimum selloi* L essential oils but not on specific plant subpart [25–28]. Hence, no investigation explored these combined bioactivities on OB in order to provide elements of comparison between the various species health effects.

Therefore the objective of the present study was to explore the differential phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory and antispasmodic profiles of *Ocimum basilicum* L. leaf and stem extracts. These investigations aimed at better understanding the various bioactive potentials of OB and to unravel the nutrition-health potential of the stem co-product. To our knowledge, it is the first time that such exploration has been undertaken on *Ocimum basilicum* L.

2. Materials and Methods

2.1. Plant Material

The aerial parts of *Ocimum basilicum* were collected in February 2020 in Kenya from a single local producer. They were imported by a French aromatic plants wholesaler at full commercial maturity (4 months of growth). Basil identification was performed and confirmed by a botanist, Sylvie Morel. A specimen was deposited at the laboratory of Botany and Mycology of the Faculty of Pharmaceutical Sciences of the University of Montpellier.

2.2. Preparation of Crude Extracts

Basil aerial parts (leaves, stems) were air-dried and grounded to powder in an herbal mill (Thermomix). Four aqueous and ethanolic extracts were prepared from basil stems and leaves. A sample of 50 g of leaf or 50 g of stem powders were extracted five times using 200 mL H₂O HPLC (high pressure liquid chromatography) grade or 200 mL absolute ethanol. An ultrasound exposure of 45 KHz for 10 min was applied. The extracts were then filtrated. Following these steps, extracts were dried under high pressure for solvent removal after being weighed to determine the extraction yield. Extracts were stored at 20 °C for further analysis.

2.3. Fingerprint of Polyphenols Extracts

The basil extracts were analyzed using liquid chromatography coupled with a mass spectrometer Acquity UPLC (Waters, Milford, MA, USA). Compounds were analyzed based on their retention times, their UV–Vis spectra, and their mass spectra. Mass spectrum was acquired using a Synapt G2-S (Waters, Milford, MA, USA) set at ESI-ionization, for a range of mass of 50–1600 Da, with a source at 140 °C, a capillary tension of 3 kV and a desolvation temperature of 450 °C with the same chromatographic parameters. Basil extracts were prepared in distilled water and methanol (30 mg/mL), and 20 µL was injected. The instrument was equipped with a column C₁₈ ACE 250 mm × 4.6 mm × 5 µm (Advanced Chromatography Technologies Ltd., Aberdeen, Scotland). DAD (Diode Array Detection) was set at 280, 330, and 380 nm. Mobile phases were 1% formic acid in pure water as phase A and acetonitrile as phase B. Flow was set at 0.7 mL min⁻¹ and at 30 °C. Gradient was fixed at 98% of A and 2% of B (at initial stage), stabilized at 2% B for 1 min, increasing at 20% of B from 1 to 3 min, to 40% B from 3 to 6 min, to 60% B from 7 to 8 min, to 80% B from 8 to 9 min, to 100% B from 9 to 11 min, returned to initial condition (2% B) in 3 min and maintained for 3 min.

2.4. Antioxidant Activity

2.4.1. TPC (Total Phenolic Content) Test

Total polyphenols assay was performed with Folin-Ciocalteu reagent according to the method of Morel et al., 2018 [29]. Extracts of OB and of rosemary were prepared in DMSO and tested at a concentration of 1 mg/mL. A calibration curve was generated on a concentration range of 1.56 to 75 µg/mL of gallic acid. In a 96-well plate, 50 µL of extract or 50 µL of gallic acid, and 50 µL of distilled water were distributed in triplicate. Then 50 µL of 10% Folin Ciocalteu reagent and 50 µL of sodium carbonate solution (1M) were added to all wells. The absorbance was measured on a microplate reader (Molecular Devices) at a wavelength of 650 nm. Results are expressed as milligrams of gallic acid equivalents (GAE) per gram of OB plant leaf extract.

2.4.2. DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) scavenging activity

Antioxidant activity was evaluated using the DPPH assay according to the method of Morel [29]. Extracts were solubilized in DMSO (4 mg/mL) before being diluted in absolute ethanol to reach a concentration of 1 mg/mL. A standard curve of Trolox was

performed (75, 50, 25, 12.5 μM). Ethanol was used as blank, ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* (0.2 mg/mL) and chlorogenic acid (0.01 mg/mL) were used as positive controls. In a 96-well plate, 100 μL of positive control or extract were placed in each well. The test was performed in triplicate for each extract. 75 μL of absolute ethanol and 25 μL of extemporaneously prepared DPPH solution (0.4 mg/mL) were introduced into each well. The plate was incubated for 30 min at room temperature and protected from light. The absorbance was read at 550 nm with a microplate reader (MDS Inc., Toronto, ON, Canada). Results are expressed as the mean plus or minus standard deviation of three independent experiments and are expressed as Trolox equivalents (TE μmoles per gram of dry extract). Results are also expressed as percentage of inhibition (% inhibition).

2.4.3. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) Assay

The ORAC assays were performed in 96-well polypropylene plates as previously described [29]. Samples were solubilized in DMSO at a concentration of 1 mg/mL before being diluted to 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ using phosphate buffer at pH 7.4. On the 96-well microplate, 20 μL of Trolox solutions at 0.6, 25, 12.5, 25, 50 and 75 μM as standard curve, or chlorogenic acid (0.01 mg/mL), or ethanolic extract of rosemary (12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) as a positive control, or the extracts at a concentration of 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, were applied. Then, 100 μL of phosphate buffer and 100 μL of extemporaneously prepared fluorescein solution (0.1 μM in phosphate buffer) were added. The microplate was incubated at 37 $^{\circ}\text{C}$ for 10 min with shaking. The reaction was initiated with 50 μL of AAPH (2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride). Fluorescence was recorded at an excitation wavelength of 485 nm and an emission wavelength of 535 nm, for 70 min using a Tristar LB 941 microplate reader. Final ORAC values were calculated using a regression equation between Trolox concentration and area under the curve of decreasing fluorescein. Data are expressed as μmoles of Trolox equivalents per gram of dry extract.

2.5. Anti-Inflammatory Activity

2.5.1. Macrophage Culture

The macrophage cell line J774.A1 (ATCC, TIB67) was obtained from LGC Standards. Cells were cultured in RPMI 1640 GlutaMAX[®] medium supplemented with streptomycin (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and penicillin (100 units/mL), 10% inactivated fetal calf serum complete RPMI medium), cells were incubated in an incubator at 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 95% humidity.

2.5.2. Cell Viability Assay

To test cytotoxicity, 6×10^5 cells/well were seeded in a 96-well culture plate in complete RPMI medium and incubated at 37 $^{\circ}\text{C}$ with different concentrations of extracts (50, 75, 100, 150 and 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) for 20 h. After incubation, 20 $\mu\text{L}/\text{well}$ of (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium), MTS, mixed with an electron coupling reagent, PMS in HBSS, was added. The plate was incubated for an additional 4 h and the absorbance at 490 nm was measured in a microplate reader (Molecular Devices) as previously described. The cell viability was calculated according to the following formula:

$$\text{cell viability \%} = \text{absorbance of samples} \times 100 / \text{absorbance of control.}$$

2.5.3. Determination of Nitrites (NO)

Extracts at the same concentrations were used as a pretreatment for the determination of the amount of nitrite produced. The presence of nitrite, a stable oxidized product of nitric oxide, was determined in the cell culture media as previously described [30]. Briefly, 100 μL of supernatant were combined with 100 μL of Griess reagent in a 96-well plate, incubated 10 min at room temperature. Nitrite concentration was determined by measuring absorbance at 550 nm and using a NaNO_2 standard curve (1.56 to 100 μM).

Results were expressed as percentage of inhibition values.

2.5.4. TNF- α (Tumor Necrosis Factor Alpha) Assay

The tumor necrosis factor alpha (TNF- α) assay was performed according to the instructions contained in the kit-ELISA (TNF alpha Mouse Uncoated ELISA kit; Thermo Fisher Scientific). After pretreatment with the different concentrations of OB extracts for 4 h, the cells were stimulated with LPS (lipopolysaccharide) 100 ng/mL (*E. coli*, 555B5) and mouse INF γ 10 ng/mL for 3 h. TNF- α release in cell supernatants was tested by sandwich enzyme-linked immunosorbent ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) assay.

2.5.5. IL-6 (Interleukin 6) Assay

IL-6 production by J774 cells was determined with the IL-6 ELISA-kit (Mouse IL6 ELISA; Thermo Fisher Scientific) after pretreatment with OB extracts at a determined concentration range (50, 75, 100, 150 and 200 μ g/mL) for 4 h. The cells were stimulated with 100 ng/mL LPS (*E. coli*, 555B5) and 10 ng/mL mouse INF γ for 18 h. IL-6 release in cell supernatants was tested according to the ELISA Kit instructions. The results for IL-6 as well as for all other pro-inflammatory cytokines are expressed as percentage of inhibition values.

2.5.6. Prostaglandin Assay

The determination of prostaglandin E2 was performed by the competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) on culture supernatants after pretreatment and subsequent activation of the cells with LPS/INF γ using the commercial Cayman PGE2 ELISA Kit Monoclonal.

2.5.7. MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) Assay

Using the ELISA kit (Mouse CCL2 (MCP-1) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) MCP-1 was detected in the cell culture supernatant 18 h after activation with LPS/INF γ . The supernatant was diluted 1:10 in EIA buffer to obtain a concentration of MCP-1 within the calibration range.

2.6. Antispasmodic Activity

2.6.1. Antispasmodic Model

These experiments were carried out in accordance with the Declaration of Helsinki and with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals as adopted and promulgated by the US National Institutes of Health. Our laboratory practice and protocols were approved on 8 February 2012, by the legal institution "Comité d'Ethique pour l'Expérimentation Animale Languedoc-Roussillon" with the bioethical approval code CEEA-LR-13015 for the University of Montpellier.

Animal Model and Isolated Jejunum Preparation

Basil antispasmodic activity on jejunum smooth muscle was performed with OB aqueous extract (since ethanol extracts compromised organ integrity and response). Male Wistar rats weighing (336–428 g) were purchased from Janvier®. Animals were maintained under stable environmental conditions (temperature $22 \pm 2^\circ\text{C}$), with a light/dark cycle (12/12 h).

Rats were anesthetized and euthanized by exsanguination. Jejunum was carefully removed and placed in Tyrod buffer whose composition was: NaCl (137 mmol/L), KCl (2.7 mmol/L), MgCl₂ (1.1 mmol/L), CaCl₂ (1.8 mmol/L), NaHCO₃ (11.9 mmol/L), glucose (5.5 mmol/L). pH was 7.4. Jejunum was then washed, released from mesenteric attachments and cut into small segments of 10 mm in length. The fragments were then mounted on organ holders and placed in 9 mL double-walled isolated organ tanks (EMKA) filled with Tyrode buffer. The physiological medium was maintained at 32°C and

oxygenated by a mixture of O₂/CO₂ (95%:5%). For the assembly of the jejunum fragments, the lower part of the organ holder was immobilized in the isolated organ tank and the upper part was connected to an isometric tension sensor. The signal supplied by the sensor was analyzed using the computer system Mac-Lab V3.6 (Apple, Cupertino, CA, USA).

Spasmolytic Activity

At the start of each experiment, jejunum segments were subjected to a basal tension of 1 g. After an equilibration period of 40 min during which washes were performed every 10 min, stimulation of the jejunum fragments was induced by adding acetylcholine (10⁻⁵M) into the tank. After acetylcholine contraction, a second equilibration period of 40 min was performed during which washings were carried out every 10 min. After this equilibration period, the jejunum fragments were subjected to a contraction induced either by BaCl₂ (4 × 10⁻⁴M) or methacholine (3 × 10⁻⁶M) for 5 min. After another 40 min equilibration period in Tyrod buffer, different concentrations of *Ocimum basilicum* leaf or stem aqueous extracts (1 mg/mL, 3 mg/mL, 6 mg/mL, 10 mg/mL) were added for a 10 min pre-treatment. A second contraction with either BaCl₂ (4 × 10⁻⁴mol) or methacholine (3 × 10⁻⁶mol) was then performed.

2.7. Statistical Analysis

Values are given as mean ± SD (standard deviation). All statistical analysis were performed on XLSTAT Software version 2019.4.1 and using one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test. Differences were considered significant when $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Phytochemical Analysis

As summarized in Figure 1 and Tables 1 and 2, the phenolic profiles of leaf and stem ethanolic extracts obtained by liquid chromatography were different. Similar results were obtained for aqueous extracts. Ethanolic and aqueous extracts for both leaves and stems were different, as was to be expected, considering the difference of extraction solvent. Phytochemical profiles demonstrated variations at both qualitative and quantitative levels. Chromatogram revealed the presence of various compounds belonging mainly to the phenolic acids, the flavonoids, organic acids and fatty acids families in accordance with the literature [31]. Phytochemicals were identified according to their chromatographic parameters (retention time, molecular ionization, etc.), internal database correspondence, and literature information. The main compounds present in leaf extracts (combined from aqueous and ethanolic) were ferroyl-tartaric acid (11%), stearic acid (9%), salvigenin (5%), medioresinol (4%), rutin (2%), and gallo-catechin (1%). In the stem extracts (combined from aqueous and ethanolic), the main compounds were vicenin (8%), rosmarinic acid (7%), stearic acid (6%), salvigenin (6%) and salvianolic acid (6%). These data indicated differential phytochemical profiles between leaves and stems associated with the specific relative ratio of bioactive compounds in each of the two matrixes. Such variations may be associated with specific biological properties.

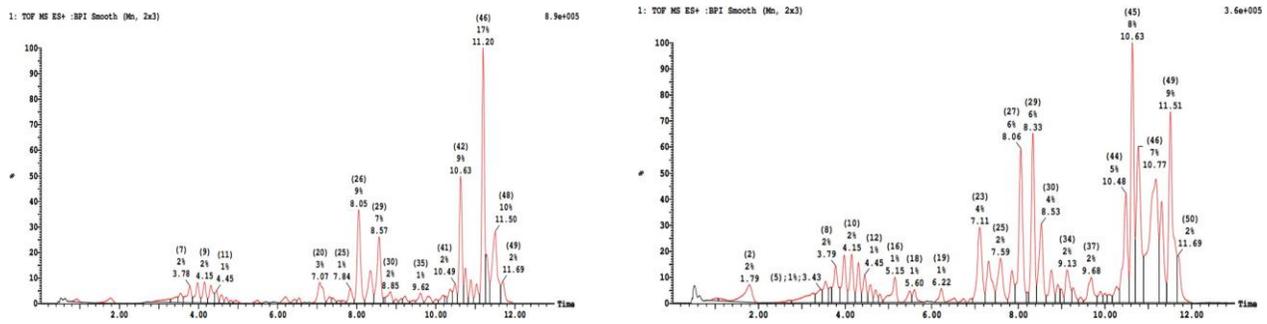


Figure 1. Chromatogram of ocimum basilicum ethanolic leaf extracts (A) and ethanolic stem extracts of ocimum basilicum (B) (M-H⁺).

Table 1. Polyphenol profile in Ocimum basilicum leaf extract.

RT (min)	M/Z	Water	Ethanol	Identification Based on Bibliography	Ref
3.25	305.2	x	x	(+)-Galocatechin	[32,33]
3.78	371.2	x	x	Medioresinole (Furanoide lignine)	[34,35]
4.31	503.3	x	x	luteolin acetyl-glucuronide	[35–37]
4.45	547.3	x	x	5.50-Dihydroxy-d-sesamin-5-O-glucoside	[38]
5.31	329.2	x		Trihydroxy octadecenoic acid (fatty Acid)	[34]
6.21	351.2		x	Salvigenin(5-Hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone) (Flavon)	[34]
6.51	329.2	x	x	Trihydroxy octadecenoic acid (fatty Acid)	[34]
6.54	359.1		x	rosmarinic Acid	[34,35]
6.93	517.3	x		luteolin acetyl-glucuronide	[35–37]
7.07	345.1		x	Eupatorin (3',5-Dihydroxy-4',6,7-trimethoxyflavone) Flavon	[34]
8.05	329.1		x	Trihydroxy Acid octadecenoic (Fatty Acid)	[34]
8.57	325.1	x	x	feruloyltartaric acid	[39–41]
9.62	325.1		x	feruloyltartaric acid	[39,41]
10.49	609.3		x	Rutin (flavonoid)	[34,36,37]

Table 2. Polyphenol profile in Ocimum basilicum stem extract.

RT (min)	M/Z	Water	Ethanol	Identification Based on Bibliography	Ref
1	191.1	x		Isocitric/citric acid	[34]
3.57	327.2	x		Salvigenin(5-Hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone) Flavones	[34]
3.78	387.2	x	x	Medioresinole (Furanoide lignine)	[34,36]
4.21	507.2	x		Quercitin-acetyl-O-glucoside	[40]
4.32	503.3	x		luteolin acetyl-glucuronide	[35–37]
4.45	547.3	x	x	5.50-Dihydroxy-d-sesamin-5-O-glucoside	[38]
4.98	359.1		x	Rosmarinic acid	[34,35]
5.14	359.1		x	Rosmarinic acid	[34,35]
5.51	435.1	x		Naringenin glucoside	[41]
6.22	327.2	x	x	Salvigenin(5-Hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone) Flavone	[34]
6.52	329.2	x	x	Trihydroxy octadecenoic acid (Fatty Acid)	[34]
7.85	311.2		x	Caftaric acid	[34,35,42]
8.06	329.1		x	Trihydroxy octadecenoic acid (fatty Acid)	[34]
8.33	359.1		x	Rosmarinic Acid	[34,35]
8.53	299.1		x	hydroxybenzoic acid-O- glucoside(salicylic acid-O-glucoside)	[39]
8.91	295.2		x	Cinnamyl malic acid	[42]
9.13	311.2	x	x	caftaric acid	[34,35]
9.74	353.2	x	x	Chlorogenic acid	[36,38]
10.48	609.3		x	Rutin (flavonoid)	[34,36,37]
10.63	593.3		x	Vicenin II (flavonoid)	[39]
10.77	593.3	x	x	feruloyltartaric acid	[39]

3.2. Polyphenols

Results obtained with the TPC assay are presented in Figure 2, which presents phenolic content expressed as GAE (Gallic Acid Equivalent). The TPC results indicated a significantly higher polyphenol content in leaf ethanol extract when compared to stem ethanol extract. Regarding aqueous extracts, the difference between leaves and stems was not significant; also, the absolute value was higher in leaves (35.14 mg/g GAE) than in stems (30.75 mg/g GAE). In addition, leaf ethanol extracts demonstrated higher polyphenol content when compared to aqueous leaf extracts. The opposite result was recorded regarding stems.

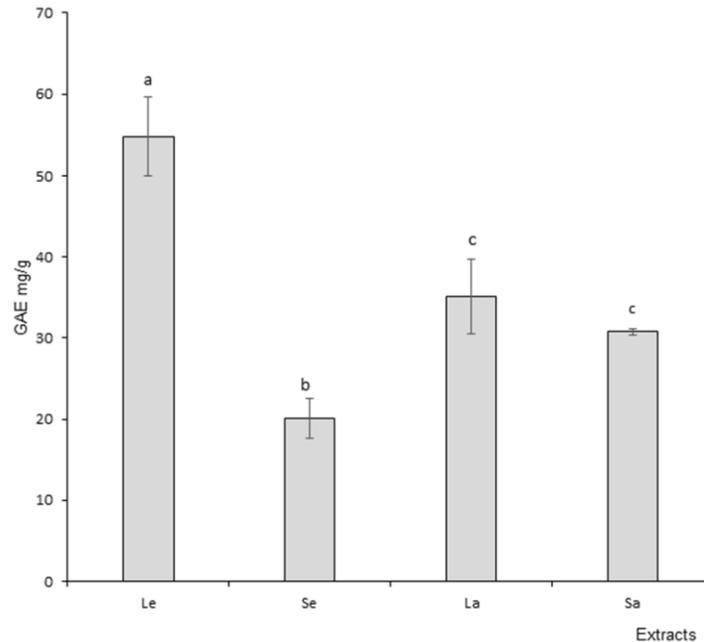


Figure 2. Total polyphenol content (TPC) of *Ocimum basilicum* extracts. Le: leaf ethanol extracts; Se: stem ethanol extracts; La: leaf aqueous extracts; Sa: stem aqueous extracts. The values are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). The dissimilar letters on the graph represent significant differences ($p < 0.05$) according to one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test. Error bars indicate \pm SD (standard deviation).

DPPH and ORAC Assay Results

As expected, all *Ocimum basilicum* extracts presented antioxidant activity to various degrees in both assays. Figure 3A presents the DPPH assay results expressed in TE (Trolox equivalent). Leaf and stem ethanol extracts demonstrated equivalent radical scavenging potential. Similarly, leaf and stem aqueous extracts antioxidant activity were not statistically different. It should be mentioned that ethanol extracts were more active than aqueous extracts. Figure 3B presents the ORAC assay results. Leaf ethanol extract antioxidant capacity was statistically higher than stem ethanol extracts. Similarly, the same difference was recorded between leaf and stem aqueous extracts, with leaves bearing a more elevated activity than stems.

Overall, ethanol extracts tended to demonstrate higher bioactivity than aqueous extracts. Therefore, anti-inflammatory assays on culture cells were only performed on leaf and stem ethanol extracts.

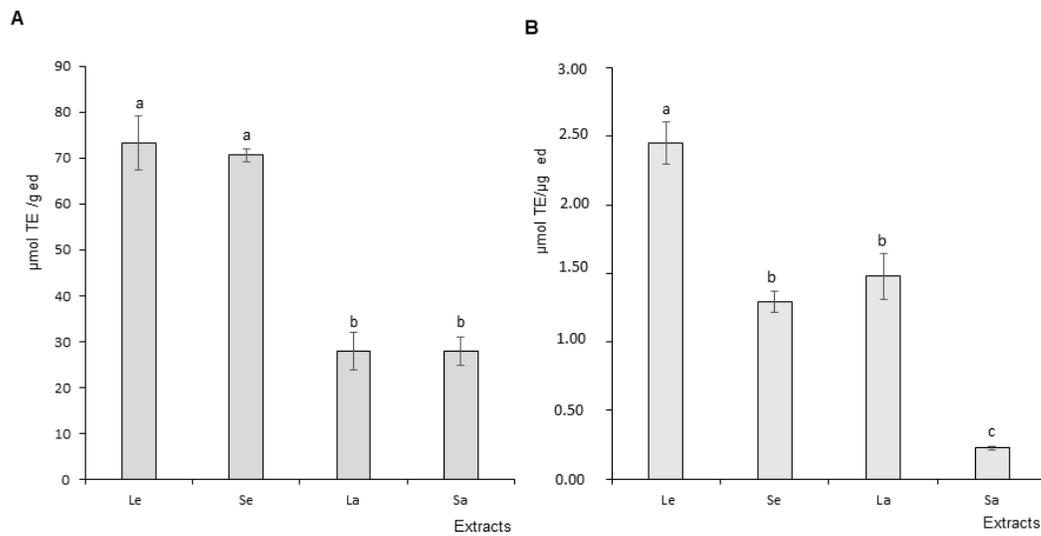


Figure 3. Antioxidant capacity of *Ocimum basilicum* extracts. (A) DPPH assay results (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), (B) ORAC assay results (oxygen radical absorbance capacity). Le: leaf ethanol extracts; Se: stem ethanol extracts; La: leaf aqueous extracts; Sa: stem aqueous extracts. The values are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). The dissimilar letters on the graph represent significant differences ($p < 0.05$) according to one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test. Error bars indicate \pm SD (standard deviation).

3.3. Anti-Inflammatory Activity

3.3.1. Cell Viability

Cell exposure to *Ocimum basilicum* extracts did not alter macrophage viability, thereby making it possible to explore anti-inflammatory activity without adverse influence.

3.3.2. Nitric Oxide (NO) Production and Scavenging

Nitric oxide (NO) production

The effects of OB extracts on nitric oxide (NO) production are presented in Figure 4A,B. The graph represents the level of inhibition of NO production as a function of increasing concentrations of OB extracts (50, 75, 100, 150 and 200 $\mu\text{g/mL}$). Leaf and stem ethanol extracts demonstrated a concentration-dependent inhibition of NO production by stimulated macrophage cells with statistically significant differences between at least three concentrations. Inhibition potential ranged for leaves and stems respectively from 14.81 to 56.95% and from 12.17 to 66.18%. Therefore leaf and stem extracts decreased stimulated macrophage production of the pro-inflammatory free radical. No statistically significant differences were recorded between NO production inhibitory potential of leaves and stems.

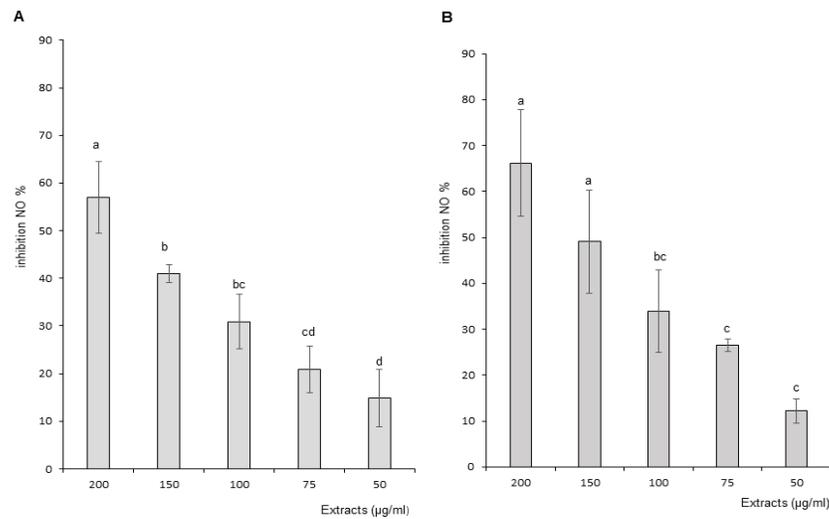


Figure 4. Effect of *Ocimum basilicum* extracts on nitric oxide (NO) production. (A) Leaf ethanol extract results, (B) stem ethanol extract results. The values are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). The dissimilar letters on the graph represent significant differences ($p < 0.05$) according to one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test. Error bars indicate \pm SD (standard deviation).

Nitric oxide (NO) scavenging

Nitric oxide (NO) scavenging results are presented on Figure 5A,B. The graph presents the level of NO scavenging potential at increasing concentrations of OB leaf and stem ethanol extracts. Both types of extract demonstrated statistically significant concentration-dependent differences in NO scavenging capacity between at least three concentrations. Scavenging potential ranged for leaves and stems, respectively, from 11.26 to 51.02% and from 11.35 to 47.79%. Therefore, leaf and stem extracts were able to partially quench the pro-inflammatory free radicals. No statistically significant difference was recorded between the NO scavenging effects of leaves and stems.

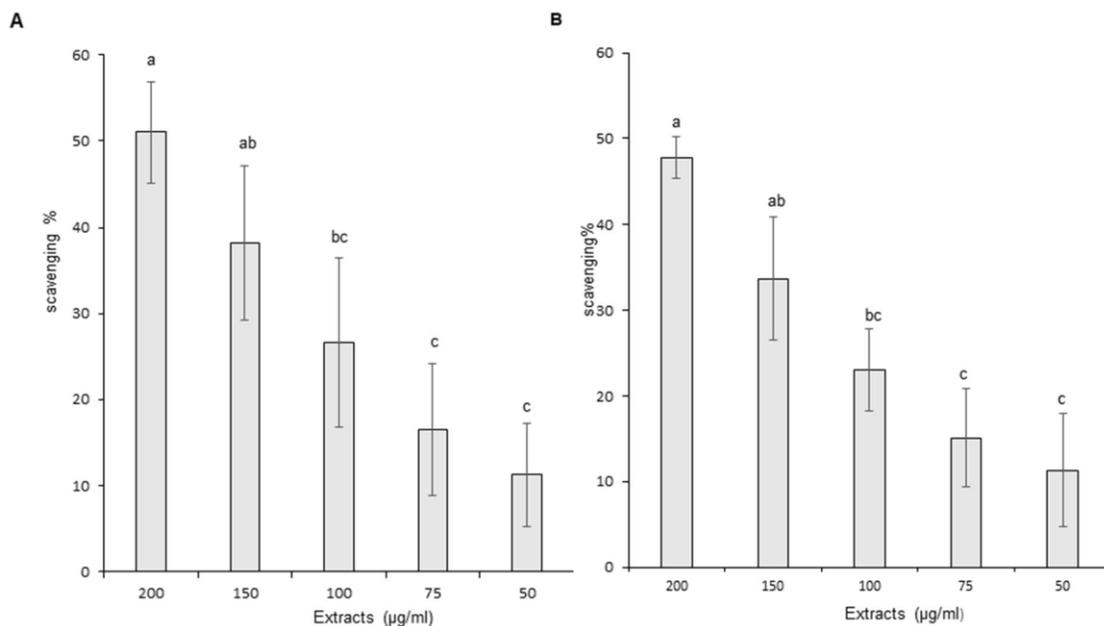


Figure 5. Scavenging capacity of *Ocimum basilicum* extracts on nitric oxide (NO). (A) Leaf ethanol extract results, (B) stem ethanol extract results. The values are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). The

dissimilar letters on the graph represent significant differences ($p < 0.05$) according to one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test. Error bars indicate \pm SD (standard deviation).

3.3.3. Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)

Figure 6A,B show the impact of OB extracts on TNF- α production by stimulated macrophage cells. The graph represents the level of TNF- α production as a function of increasing concentrations of OB extracts. Leaf and stem ethanol extracts did not demonstrate a statistically significant reduction in TNF- α production. Moreover, a slight statistically significant increase in TNF- α production was recorded with stem extracts. A similar phenomenon was observed with leaf extracts, even though it did not reach statistical significance due to larger errors to the mean. Therefore, leaf and stem extracts did not positively influence TNF- α with regard to anti-inflammatory effect.

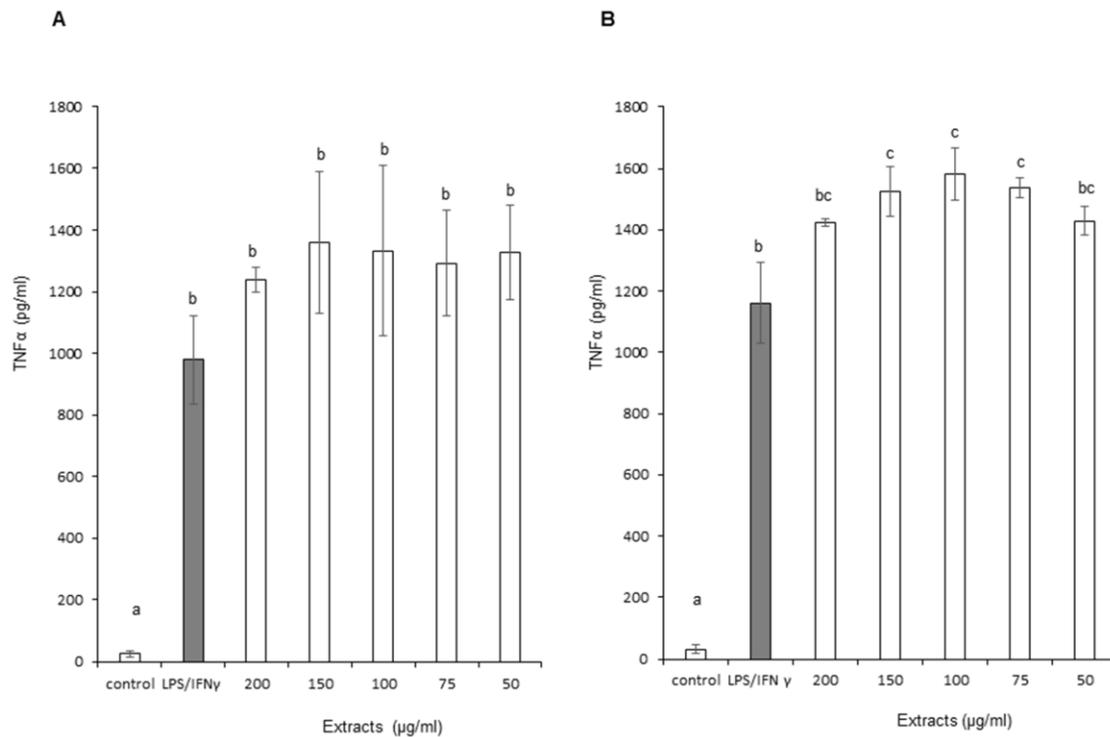


Figure 6. Effect of *Ocimum basilicum* extracts on Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) production. (A) Leaf ethanol extract results, (B) stem ethanol extract results. The values are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). The dissimilar letters on the graph represent significant differences ($p < 0.05$) according to one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test. Error bars indicate \pm SD (standard deviation).

3.3.4. Interleukin 6 (IL-6)

The effects of OB extracts on Interleukin 6 (IL-6) production are presented in Figure 7A,B. The graph presents the level of IL-6 production as a function of increasing concentrations of OB extracts. Leaf and stem ethanol extracts demonstrated a concentration-dependent reduction in IL-6 production by stimulated macrophage cells. In addition, stem extracts decreased IL-6 levels more significantly than leaf extracts, with maximum reductions of, respectively, 88.87% and 62.43%. Therefore, stem extracts demonstrated a superior effect on IL-6 inflammation marker.

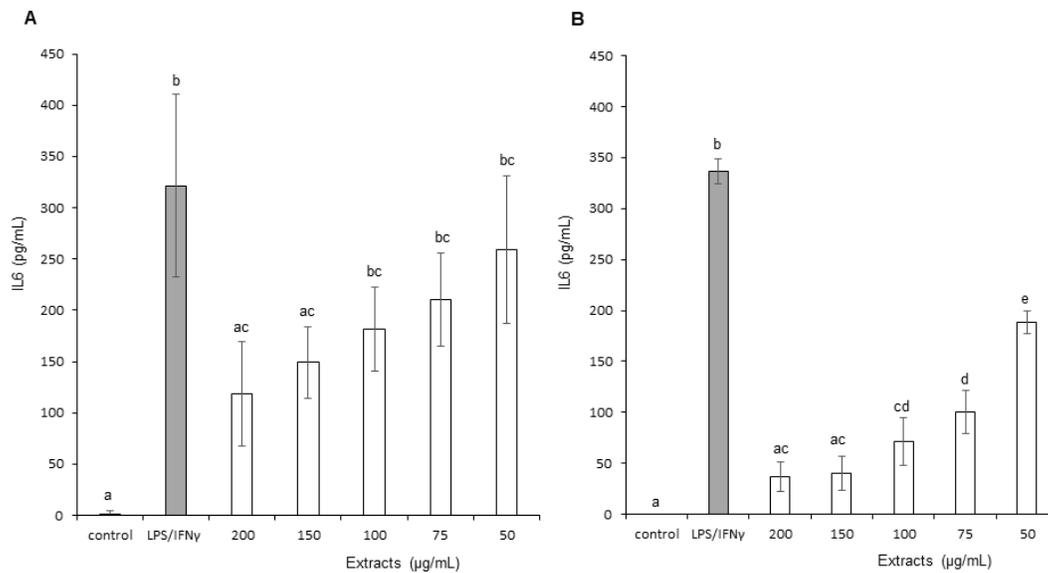


Figure 7. Effect of *Ocimum basilicum* extracts on Interleukin 6 (IL-6) production. (A) Leaf ethanol extract results, (B) stem ethanol extracts results. The values are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). The dissimilar letters on the graph represent significant differences ($p < 0.05$) according to one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test. Error bars indicate \pm SD (standard deviation).

3.3.5. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1)

The effects of OB extracts on Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) production are presented in Figure 8A,B. The graph represents the level of MCP-1 production as a function of increasing concentrations of OB extracts. Leaf extracts did not generate a reduction in MCP-1 production except at the highest dose (200 $\mu\text{g/mL}$), with an average decrease of 14.73% for this concentration. Conversely, stems reduced MCP-1 production in a partially concentration-dependent way at 150 and 200 $\mu\text{g/mL}$ of OB extracts, with an average decrease of, respectively, 23.92% and 55.28%. In addition, therefore, stem extracts demonstrated a superior effect on MCP-1 inflammation marker.

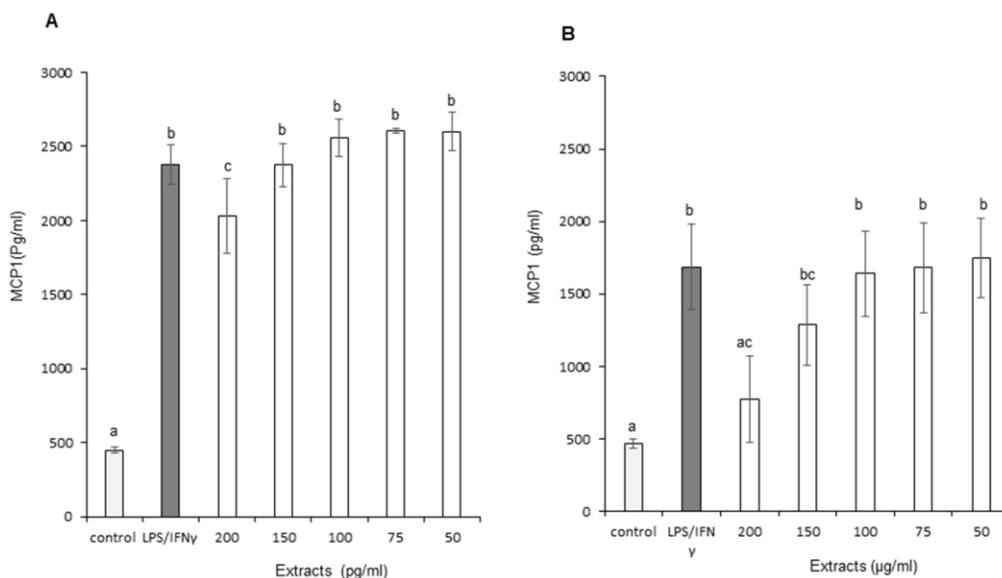


Figure 8. Effect of *Ocimum basilicum* extracts on Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) production. (A) Leaf ethanol extract results, (B) stem ethanol extracts results. The values are

expressed as mean \pm SD ($n = 3$). The dissimilar letters on the graph represent significant differences ($p < 0.05$) according to one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test. Error bars indicate \pm SD (standard deviation).

3.3.6. Prostaglandin E2 (PGE-2)

Effects of OB extracts on Prostaglandin E2 (PGE-2) production are presented in Figure 9. The graph represents the level of PGE-2 production as a function of increasing concentrations of OB extracts. Leaf extracts did not generate a reduction in PGE-2 (data not shown). Conversely, stems decreased PGE-2 at only three concentrations: 100, 150 and 200 $\mu\text{g/mL}$. The graph suggests a concentration-dependent effect based on the numerical values (62.88 ± 6.67 , 51.92 ± 12.10 and 38.62 ± 17.66 pg/mL , respectively), but it did not reach statistical significance. Therefore, stem extracts demonstrated a superior effect on PGE-2 inflammation marker.

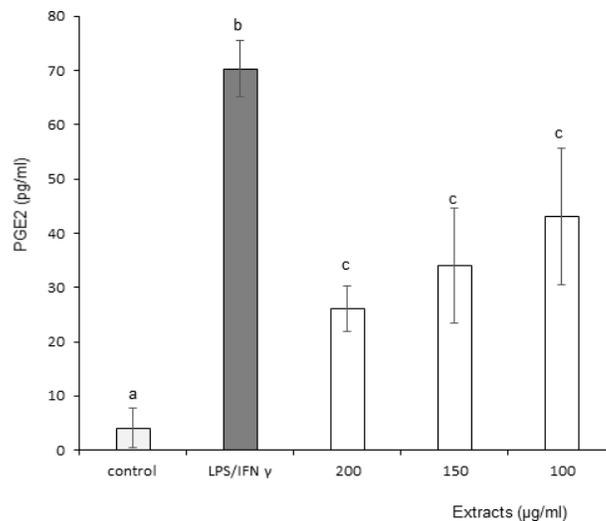


Figure 9. Effect of *Ocimum basilicum* stem ethanol extracts on Prostaglandin E2 (PGE-2) production. The values are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). The dissimilar letters on the graph represent significant differences ($p < 0.05$) according to one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test. Error bars indicate \pm SD (standard deviation).

3.4. Antispasmodic Activity

The antispasmodic effects of leaf and stem extracts are presented in Figure 10A,B, respectively. BaCl_2 and metacholine induced a sustained contraction on jejunum segments. Internal positive control aminophylline induced the expected relaxation.

Both leaf and stem aqueous extracts generated significant relaxation on BaCl_2 -induced contraction. Concentration-dependent relaxation was recorded for stems, but only partially for leaves. Relaxation generated by the lowest concentration of stem extracts was inferior when compared to the same concentration for leaf extracts.

Regarding metacholine-induced contraction, leaf and stem aqueous extracts generated significant relaxation. In both cases, relaxation was concentration dependent.

Therefore, both leaf and stem extracts demonstrated significant jejunum antispasmodic effects.

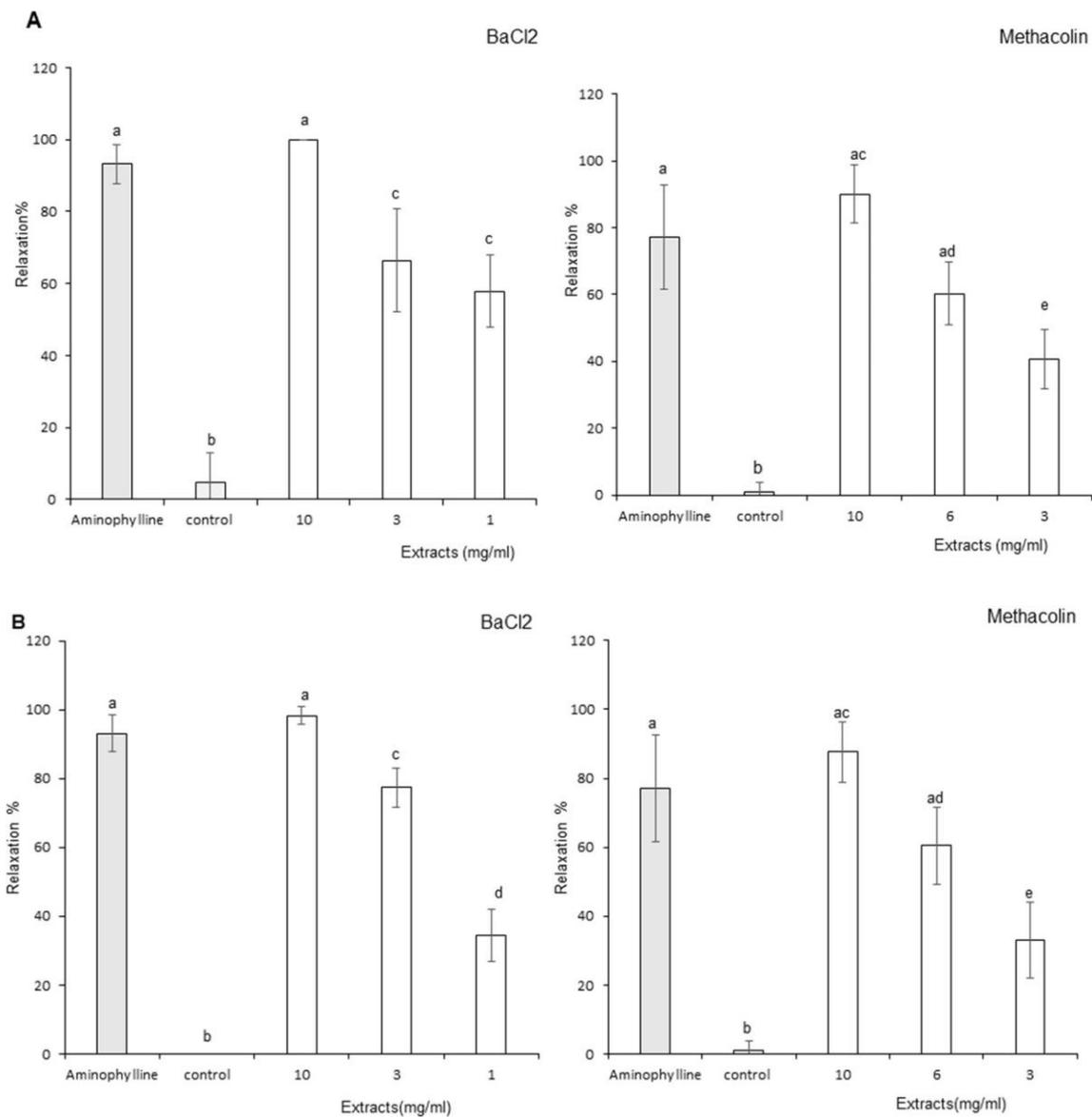


Figure 10. Effect of *Ocimum basilicum* extracts on jejunum rings stimulated by barium chloride (BaCl₂) or Metacholin. (A) Leaf aqueous extract results, (B) stem aqueous extracts results. The dissimilar letters on the graph represent significant differences ($p < 0.05$) according to one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test. Error bars indicate \pm SEM (standard error to the mean).

4. Discussion

Ocimum basilicum is recognized as an aromatic medicinal plant used in traditional medicine for a large panel of therapeutic indications, some of which have been confirmed by scientific studies [1]. Most studies have explored leaf aqueous or ethanol extracts as well as essential oil [31,42]. These extracts demonstrate antioxidant, anti-inflammatory, immunomodulatory, analgesic, anti-pyretic, anti-aging, anti-cancer and antispasmodic properties [43–45]. When exploring the potential bioactivities of vegetables, the choice of the plant subparts is known to influence the type and/or levels of bioactivity [21]. In this context, our study aimed at exploring the differential phytochemical and biological profile of two subparts of *Ocimum basilicum*, i.e., leaves and stems.

Leaf and stem extract compositions indicated the presence of phenolic acids, flavonoids, organic acids and fatty acids. Our results are in accordance with previous records

from the literature about basil phytochemistry [31]. In addition, we observed differences in composition between leaves and stems. From a qualitative point of view, leaves contain flavonoids (salvigenin, rutin and gallic acid), organic acid (ferrolyl-tartaric acid) and phenolic acids (medioresinol) among others compounds. Stems contain flavonoids (vicenin, salvigenin), phenolic acids (rosmarinic acid, salvianolic acid) and fatty acid (stearic acid). From a quantitative point of view, the relative amounts also showed specificity for each sub-matrix respectively (leaves vs. stems), e.g., stearic acid (9% vs. 6%), salvigenin (5% vs. 6%), rutin (2% vs. nd, not detected), gallic acid (1% vs. nd), rosmarinic acid (0% vs. 7%) or salvianolic acid (0% vs. 6%). These differences, on both qualitative and quantitative levels, between subparts of a vegetable have been reported in several plants. They may be related to specific functions and associated metabolic pathways of the considered part of the vegetable [20,21]. Furthermore, the pedoclimatic conditions of the growth of a plant [17], as well as the accession type of basil, may strongly influence its phytochemical profile and thereby the variations associated with the subparts of the plant. In addition, the extraction process, with either water or hydro-ethanol, also has an impact on the phytochemical profiles of the extracts [46]. The association of all these factors is of interest in terms of the relation between the plant's phytochemistry and its bioactivity potential. Indeed, the constitutive compounds of the extracts, in addition to characterizing the vegetable and its subpart, define a specific combinations of bioactive and non-bioactive molecules, each possessing its own biological properties, potentially influencing the final resulting biological activity.

In this context, total polyphenol content (TPC) makes it possible to build a bridge between plant phytochemistry and bioactivity as a first step in evaluating the global putative antioxidant potential of the vegetable matrix. Our results indicate a higher TPC in leaf ethanol extract when compared to stems, but no difference was recorded between aqueous extracts. The levels of TPC are in the same range as previously reported for basil [46]. Polyphenols represent a large group of compounds including various chemical families, e.g., phenolic acids, flavonoids and tannins, recognized for their positive effects in various pathological conditions characterized by redox imbalance and inflammation [47]. The phytochemical profile and associated TPC are influenced by the vegetable subpart and extraction procedure, with leaves tending to have higher bioactive potential. This type of result was observed in basil when the authors compared leaves and flowers extracts [45]. Therefore, *Ocimum basilicum* leaves may bear a more pronounced antioxidant activity than other parts of the plant. Indeed phenolic compounds are secondary metabolites of plants with direct antioxidant effects as electrons donors, and in some case they may also stimulate cells' endogenous antioxidant defense systems [48].

The DPPH assay mimics free radical production to assess the scavenging capacity of a test compound or extract based on its ability to provide a hydrogen atom. Basil antioxidant capacity evaluated by DPPH assay indicated that leaf and stem extracts have similar antioxidant activity in aqueous or ethanol solvent. However, the ethanolic procedure positively influenced the biological activity of the samples, with a higher antioxidant effect in both leaf and stem extracts when compared to aqueous ones, in accordance with the literature. The ORAC test monitors the scavenging of free radicals such as peroxy radicals, predominantly associated with lipid peroxidation. The ORAC assay data confirm the superiority of the antioxidant activity of leaf and stem ethanol extracts over the corresponding aqueous extracts. Nonetheless, in both solvent conditions, leaves appeared more active than stems. Taken together, the results from TPC, DPPH and ORAC assays suggest that leaf ethanol extracts have more potent antioxidant bioactivity potential than stem extracts. This difference in biological properties between the subparts of the plant and as a function of the extraction procedure have already been observed by other research groups in both basil (between leaves and flowers) [49] and other vegetables [50]. The phytochemical detected in both parts of the plant are known for their antioxidant potential. Indeed, compounds such as salvigenin, salvianolic acid, rosmarinic acid or vicenin and rutin are known for their health effects. They include antioxidant, anti-inflammatory, and also

immunomodulation, anti-apoptotic and anti-tumorigenic properties [51]. Therefore, the difference in biological effects, in addition to accession type, growth conditions and extraction procedure, and without being exhaustive, may also rely on differential combinations of the quality and quantity of the compounds involved in a complex interplay of synergies and antagonisms [20].

Considering that leaf ethanol extracts were more bioactive (preliminary results, not shown), we focused our study on ethanol extracts of leaves and stems.

Inflammation processes and the associated inflammatory cytokine production are normal physiological non-specific immune responses when facing organism assault. In various metabolic diseases, such as inflammation-associated pathologies, obesity, cancer or cardiovascular diseases, they may play a pivotal role. In such cases, plant polyphenols and metabolites are known to bear in vitro and in vivo anti-inflammatory activities alleviating cells from the detrimental inflammation burden responsible for tissue damages [14]. The mechanism of action of polyphenols is proposed to modulate signaling pathways such as NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), MAPk (mitogen-activated protein kinase), PI3K/Akt (Phosphatidylinositol 3-kinase/Protein kinase B), PLA2 enzyme (Phospholipase A2), cyclooxygenases (COXs) leading to reduction of inflammation markers production, i.e., Prostaglandin E2, Interleukin 6 or Monocytes Chemoattractant Protein-1. Furthermore, polyphenols are known to stimulate the activity of catalase, superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase, thereby improving endogenous anti-inflammatory defenses [52].

The anti-inflammatory properties of *Ocimum basilicum* (OB) were explored on stimulated macrophage cells in vitro through the measurement of inflammatory marker production. Nitric oxide (NO) is a free radical and an inflammation marker involved with various functions in different organs, i.e., vasodilation in the cardiovascular system or a mediator of the non-specific immune response [53]. Both extracts induced a concentration-dependent inhibition of nitric oxide (NO) production. In addition, the extracts also demonstrated the ability to quench NO free radicals in a similar concentration-dependent manner. These effects, associated with OB antioxidant capacity, corroborate the biological activity of stem extracts in oxidative stress conditions. This property might be explained by the combination of NO scavenging and an inhibitory effect of flavonoids on iNOS (inducible Nitric Oxide Synthase), as previously shown [52].

Conversely, TNF- α production was not affected by macrophage exposure to OB extracts. Neither leaves or stem extracts demonstrated a significant influence. This pro-inflammatory cytokine is known for its pleiotropic and contradictory effects through the modulation of inflammation onset and oncogenesis processes. Its beneficial influence seems to be associated with its concentration levels. Therefore, modulation of its production by bioactive compounds may be of variable interest as a function of the subject pathophysiological status [54]. Nonetheless, it is noteworthy to mention that basil ethanol extracts were demonstrated to have among the highest anti-tumor effects in the lamiaceae plant family. This anti-oncogenesis property and associated genoprotective effects would be mainly correlated with basil impact on oxidative stress and NO modulation rather than TNF. Therefore it might be suggested that the absence of variation of the latter cytokine in our assay, for both leaves and stems, might be considered as in accordance rather than as a discrepancy regarding the biological potential of *Ocimum basilicum* [49].

To further explore the anti-inflammatory and immunomodulatory potential of OB, we measured its influence on inflammation markers Interleukin 6 (IL-6), Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) and prostaglandin E2 (PGE-2) productions. Stem ethanol extracts clearly demonstrate (i) a concentration-dependent inhibition of the production of all three molecules and (ii) a statistically superior inhibition of the production of the three inflammation markers when compared to leaf ethanol extracts. These data suggest the potential interest of stem extracts for treating inflammation-associated diseases. The inhibition of PGE-2 production may be related to the observed reduction of IL-6 and MCP-1 production [55]. Phenolic acids and flavonoids are known to inhibit PLA2 (Phospholipase

A2) and COX (Cyclooxygenase) enzyme activities. This leads to reduction of prostaglandin production, which is associated with lower stimulation of IL-6 and MCP-1 production. This hypothesis may be compatible with the absence of effects of OB extracts on TNF- α and its signaling pathway. Indeed, TNF- α is associated with IL-6 production through the p42-44 MAPK pathway. A decrease in IL-6 and MCP-1 secretion could be generated via the inhibition of PLA2/COX pathway without significant effect on TNF- α /p42-44 MAPK signaling cascade [56–59]. Taken together, our results on inflammation demonstrate the anti-inflammatory properties of OB. They also unravel the specific more potent effects of stem extracts on inflammatory markers involved in the initiation and chemotaxis phase of inflammation with a possible prophylactic influence against the transition from acute to chronic condition. To our knowledge, this the first time that *Ocimum basilicum* stem extracts have been reported to demonstrate these bioactivities in vitro in comparison to classically used leaf extracts.

Among the various biological properties attributed to the *Ocimum* genus and its multiple species, spasmolytic properties have been claimed by a few reports for *Ocimum gratissimum* on rabbit jejunum, guinea pig ileum and rat vascular bed. These data were obtained with essential oils [57–59]. Regarding *Ocimum basilicum* aqueous extract, spasmolytic effect has only been explored on the responsiveness of isolated tracheal rings to methacholin [60].

Despite its use in traditional medicine for digestive troubles [1], the antispasmodic activity of *Ocimum basilicum* has never been tested on jejunum smooth muscle. We therefore investigated OB extract on this organ target. We used an aqueous extract, as ethanol caused tissue alteration and dysfunction. Smooth muscle contractions are present in various intestine pathologies with or without inflammation such as IBD (inflammatory bowel disease) or asthma, and they may be painful. Pharmacological agents able to inhibit these spasms may contribute to alleviate both intestinal/tracheal disorder and pain [61]. BaCl₂ induces calcium entry in the cell through a voltage-dependent calcium channel. This leads to hyperpolarization of the smooth muscle cell membrane and cause its contraction. Methacholine is a direct cholinergic agonist of muscarinic receptor inducing smooth muscle contraction. Both OB leaves and aqueous extracts demonstrated concentration-dependent relaxation of smooth muscle contraction induced by BaCl₂ and Methacholine. These results clearly suggest that *Ocimum basilicum* stems and leaves have significant antispasmodic effects. This observation is in accordance with previous reports regarding the properties of *Ocimum* genus extracts on smooth muscles [57–59]. In addition, our data tend to indicate a dual mechanism of action for the observed antispasmodic effect that could be mediated by an anticholinergic action and a calcium channel blockade. This hypothesis is supported by previous results obtained on various *Ocimum* species and might be supported by the phytochemicals present in the extracts [28,60,61]. Further investigations are required to determine the precise pharmacological mechanism of action of OB extracts on smooth muscle contractility and to identify the compounds responsible for this action. Records from the literature suggest a direct effect, independent from autonomic central nervous system [28]. To our knowledge, it is the first time that *Ocimum basilicum* stem extracts have been reported to demonstrate this bioactivity ex vivo. It may contribute to scientifically confirming the traditional use of *Ocimum basilicum* in diseases with smooth vascular hyperactivity disorders such as IBD, asthma or hypertension.

5. Conclusions

In conclusion, the present study explored, for the first time, the antioxidant, anti-inflammatory and antispasmodic properties of *Ocimum basilicum* stem extracts.

Taken together, our results suggest several conclusions. First, OB stem extracts demonstrate biological activity of interest. Second, the subparts of the OB plant, i.e., stems and leaves, demonstrate differential phytochemistry that could be correlated with bioactivity variations, more notably with respect to anti-oxidant and anti-inflammatory properties, but not with respect to antispasmodic effects. Third, through processes, e.g.,

extraction, applied to a vegetable, it may be possible to selectively orient the physicochemical and thereby biological properties of an extract to target a given pathophysiological disturbance. In the present case, our data, combined with that found in the literature, argue for the potentially significant interest of *Ocimum basilicum* extracts, and more specifically stem extracts, for the prophylaxis and/or as adjuvant therapy in the treatment of intestinal relapsing diseases associated with inflammation such as IBD. Indeed, stems, in addition to their antispasmodic potential, have a marked impact on biomarkers involved in the initiating phases of inflammation and chemophylaxis, which may contribute to limit the acute phases of the pathology as well as pain through reduction of prostaglandin production and spasms intensity [28,61–63].

Finally, it should be mentioned that a high level of complexity emerges through the endeavor of understanding the nutrition-health potential of plant extracts. Future in-depth investigations are necessary to articulate the exploration of (i) the complex and intricate pathological regulatory pathways and associated mediators involved in the targeted diseases with (ii) the complex pharmacological interplay between bioactive and non-bioactive compounds present in the plant extracts. Our research group is engaged in unraveling these research questions.

Author Contributions: Conceptualization, P.P.; methodology, A.B., F.B. (Frederic Boudard), F.B. (Florence Bichon), A.S., S.M., K.P., M.V., C.G.; validation, P.P. and F.B. (Florence Bichon); formal analysis, A.S., S.M. and A.B.; investigation, A.B., A.S., K.P., C.G., F.B. (Frederic Boudard), F.B. (Florence Bichon) and S.M.; resources, P.P.; data curation, A.B., A.S., S.M. and P.P.; writing—original draft preparation, A.B. and P.P.; writing—review and editing, P.P. and S.M.; supervision, P.P.; project administration, P.P.; funding acquisition, P.P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Institutional Review Board (or Ethics Committee) of “Comité d’Ethique pour l’Expérimentation Animale Languedoc-Roussillon” (bioethical approval code CEEA-LR-13015 for the University of Montpellier and our laboratory practice and protocols were approved on 8 February 2012).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: We would like to acknowledge Claudie Dhuique-Mayer, Jean Charles Robinson, Dominique Pallet, Véronique Vidal, Thierry Goli, and Sabine Galindo for their scientific support).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Bilal, A.; Jahan, N.; Ahmed, A.; Bilal, S.N.; Habib, S.; Hajra, S. Phytochemical and pharmacological studies on *Ocimum basilicum* Linn-A review. *Int. J. Curr. Res. Rev.* **2012**, *4*, 73–83.
2. Putievsky, E.; Galambosi, B. Production Systems of Sweet Basil. In *Basil: The Genus Ocimum*; Hiltunen, R., Holm, Y., Eds.; Medicinal and Aromatic Plants—Industrial Profiles; Taylor and Francis: Amsterdam, The Netherlands, 2005; Volume 10, pp. 37–63.
3. Nadeem, F.; Hanif, M.A.; Bhatti, I.A.; Jilani, M.I.; Al-Yahyai, R. Chapter 4: Basil. In *Medicinal Plants of South Asia*; Hanif, M.A., Nawaz, H., Khan, M.M., Byrne, H.J., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2020; pp. 47–62.
4. Pushpangadan, P.; George, V. Basil. In *Handbook of Herbs and Spices*, 2nd ed.; Peter, K.V., Ed.; Woodhead Publishing: Sawston, UK, 2012; pp. 55–72.
5. Calderón Bravo, H.; Vera Céspedes, N.; Zura-Bravo, L.; Muñoz, L.A. Basil Seeds as a Novel Food, Source of Nutrients and Functional Ingredients with Beneficial Properties: A Review. *Foods* **2021**, *10*, 1467. <https://doi.org/10.3390/foods10071467>.
6. Naji-Tabasi, S.; Razavi, S.M.A. Functional properties and applications of basil seed gum: An overview. *Food Hydrocoll.* **2017**, *73*, 313–325.
7. Kisa, D.; İmamoğlu, R.; Genç, N.; Şahin, S.; Qayyum, M.A.; Elmastaş, M. The interactive effect of aromatic amino acid composition on the accumulation of phenolic compounds and the expression of biosynthesis-related genes in *Ocimum basilicum*. *Physiol. Mol. Biol. Plants* **2021**, *27*, 2057–2069. <https://doi.org/10.1007/s12298-021-01068-1>.

8. Irondi, E.A.; Agboola, S.O.; Oboh, G.; Boligon, A.A. Inhibitory effect of leaves extracts of *Ocimum basilicum* and *Ocimum gratissimum* on two key enzymes involved in obesity and hypertension in vitro. *J. Intercult. Ethnopharmacol.* **2016**, *5*, 396–402. <https://doi.org/10.5455/jice.20160814112756>.
9. Al Abbasy, D.W.; Pathare, N.; Al-Sabahi, J.N.; Khan, S.A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum* Linn.). *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2015**, *5*, 645–649.
10. Vieira, R.F.; Simon, J.E. Chemical Characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. *Econ. Bot.* **2000**, *4*, 207–216.
11. Abirami, S.G.; Nirmala, P.A. Comparative in vitro study of anticancer effect of *Mentha piperita*, *Ocimum basilicum* and *Coleus aromaticus* against human laryngeal epidermoid carcinoma (HEP-2) cell lines. *J. Med. Plants Stud.* **2014**, *2*, 6–9.
12. Javanmardi, J.; Khalighi, A.; Kashi, A.; Bais, H.P.; Vivanco, J.M. Chemical Characterization of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Found in Local Accessions and Used in Traditional Medicines in Iran. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5878–5883.
13. Eftekhar, N.; Moghimi, A.; Mohammadian Roshan, N.; Saadat, S.; Boskabady, M.H. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of hydro-ethanolic extract of *Ocimum basilicum* leaves and its effect on lung pathological changes in an ovalbumin-induced rat model of asthma. *BMC Complement. Altern. Med.* **2019**, *19*, 349. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2765-4>.
14. Egbuna, C.; Awuchi, C.G.; Kushwaha, G.; Rudrapal, M.; Patrick-Iwuanyanwu, K.C.; Singh, O.; Odoh, U.E.; Khan, J.; Jeevanandam, J.; Kumarasamy, S.; et al. Bioactive Compounds Effective Against Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review. *Curr. Top. Med. Chem.* **2021**, *21*, 1067–1095. <https://doi.org/10.2174/1568026621666210509161059>.
15. Bower, A.; Marquez, S.; De Mejia, E.G. The Health Benefits of Selected Culinary Herbs and Spices Found in the Traditional Mediterranean Diet. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2016**, *56*, 2728–2746. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.805713>.
16. Da Costa, A.S.; de Arrigoni-Blank, M.F.; De Carvalho Filho, J.L.; De Santana, A.D.; de Santos, D.A.; Alves, P.B.; Blank, A.F. Chemical diversity in basil (*Ocimum* sp.) germplasm. *Sci. World J.* **2015**, *2015*, 352638. <https://doi.org/10.1155/2015/352638>.
17. Soro, L.C.; Munier, S.; Pelissier, Y.; Grosmaire, L.; Yada, R.; Kitts, D.; Ocho-Anin Atchibri, A.L.; Guzman, C.; Boudard, F.; Menut, C.; et al. Influence of geography, seasons and pedology on chemical composition and anti-inflammatory activities of essential oils from *Lippia multiflora* Mold leaves. *J. Ethnopharmacol.* **2016**, *194*, 587–594. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.047>.
18. Ferrare, K.; Bidel, L.P.R.; Awwad, A.; Poucheret, P.; Cazals, G.; Lazennec, F.; Azay-Milhau, J.; Tournier, M.; Lajoix, A.D.; Tousch, D. Increase in insulin sensitivity by the association of chicoric acid and chlorogenic acid contained in a natural chicoric acid extract (NCRAE) of chicory (*Cichorium intybus* L.) for an antidiabetic effect. *J. Ethnopharmacol.* **2018**, *215*, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.12.035>.
19. Asgari Lajayer, B.; Najafi, N.; Moghiseh, E.; Mosaferi, M.; Hadian, J. Effects of Gamma Irradiated and Non-Irradiated Sewage Sludge on Essential Oil Content and Constituents of *Ocimum basilicum* L. *J. Med. Plants* **2019**, *18*, 99–117.
20. Rui, W.; Xia, W.; Zhao, W.; Li, B.; Li, J.; Feng, Y.; Chen, H.; Zhao, S. Differential Constituents in Roots, Stems and Leaves of *Polygonum multiflorum* Thunb. Screened by UPLC/ESI-Q-TOF-MS and Multivariate Statistical Analysis. *J. Chromatogr. Sci.* **2020**, *58*, 136–143. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmz086>.
21. Wang, J.; Zhang, J.; Zhang, C.; Sun, X.; Liao, X.; Zheng, W.; Yin, Q.; Yang, J.; Mao, D.; Wang, B.; et al. The qualitative and quantitative analyses of *Gelsemium elegans*. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2019**, *172*, 329–338. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.05.015>.
22. Genfi, A.K.A.; Larbie, C.; Emikpe, B.O.; Oyagbemi, A.A.; Firempong, C.K.; Adjei, C.O. Modulation of Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines as Therapeutic Mechanisms of *Ocimum americanum* L Extract in Carbon Tetrachloride and Acetaminophen-Induced Toxicity in Rats. *J. Evid. Based Integr. Med.* **2020**, *25*, 2515690X20938002. <https://doi.org/10.1177/2515690X20938002>.
23. Hakkim, F.L.; Shankar, C.G.; Girija, S. Chemical composition and antioxidant property of holy basil (*Ocimum sanctum* L.) leaves, stems, and inflorescence and their in vitro callus cultures. *J. Agric Food Chem.* **2007**, *55*, 9109–9117. <https://doi.org/10.1021/jf071509h>.
24. Kelm, M.A.; Nair, M.G.; Strasburg, G.M.; DeWitt, D.L. Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory phenolic compounds from *Ocimum sanctum* Linn. *Phytomedicine.* **2000**, *7*, 7–13. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(00\)80015-X](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(00)80015-X).
25. Madeira, S.V.; Matos, F.J.; Leal-Cardoso, J.H.; Criddle, D.N. Relaxant effects of the essential oil of *Ocimum gratissimum* on isolated ileum of the guinea pig. *J. Ethnopharmacol.* **2002**, *81*, 1–4. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(02\)00049-1](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(02)00049-1).
26. Madeira, S.V.; Rabelo, M.; Soares, P.M.; Souza, E.P.; Meireles, A.V.; Montenegro, C.; Lima, R.F.; Assreuy, A.M.; Criddle, D.N. Temporal variation of chemical composition and relaxant action of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae) on guinea-pig ileum. *Phytomedicine* **2005**, *12*, 506–509. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.11.009>.
27. Franca, C.S.; Menezes, F.S.; Costa, L.C.; Niculau, E.S.; Alves, P.B.; Pinto, J.E.; Marçal, R.M. Analgesic and antidiarrheal properties of *Ocimum selloi* essential oil in mice. *Fitoterapia* **2008**, *79*, 569–573. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2008.06.002>.
28. Souza, S.D.; Franca, C.S.; Niculau, E.S.; Costa, L.C.; Pinto, J.E.; Alves, P.B.; Marçal, R.M. Antispasmodic effect of *Ocimum selloi* essential oil on the guinea-pig ileum. *Nat. Prod. Res.* **2015**, *29*, 2125–2128. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.989392>.
29. Morel, S.; Arnould, S.; Vitou, M.; Boudard, F.; Guzman, C.; Poucheret, P.; Fons, F.; Rapior, S. Antiproliferative and Antioxidant Activities of Wild Boletales Mushrooms from France. *Int. J. Med. Mushrooms* **2018**, *20*, 13–29. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2018025329>.
30. Bony, E.; Boudard, F.; Dussosoy, E.; Portet, K.; Brat, P.; Giaimis, J.; Michel, A. Chemical composition and anti-inflammatory properties of the unsaponifiable fraction from awara (*Astrocaryum vulgare* M.) pulp oil in activated J774 macrophages and in a mice model of endotoxic shock. *Plant Foods Hum. Nutr.* **2012**, *67*, 384–392. <https://doi.org/10.1007/s11130-012-0323-z>.

31. Deme, P.; Aluganti Narasimhulu, C.; Parthasarathy, S. Evaluation of Anti-Inflammatory Properties of Herbal Aqueous Extracts and Their Chemical Characterization. *J. Med. Food*. **2019**, *22*, 861–873. <https://doi.org/10.1089/jmf.2019.0009>.
32. Ma, J.; Yang, H.; Basile, M.J.; Kennelly, E.J. Analysis of Polyphenolic Antioxidants from the Fruits of Three Pouteria Species by Selected Ion Monitoring Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5873–5878. <https://doi.org/10.1021/jf049950k>.
33. Kumar, S.; Bouic, P.J.; Rosenkranz, B. In Vitro Assessment of the Interaction Potential of *Ocimum Basilicum* (L.) Extracts on CYP2B6, 3A4, and Rifampicin Metabolism. *Front. Pharmacol.* **2020**, *11*, 517. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00517>.
34. Jayasinghe, C.; Gotoh, N.; Aoki, T.; Wada, S. Phenolics Composition and Antioxidant Activity of Sweet Basil (*Ocimum Basilicum* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4442–4449. <https://doi.org/10.1021/jf034269o>.
35. Ibrahim, R.Y.M.; Mansour, S.M.; Elkady, W.M. Phytochemical Profile and Protective Effect of *Ocimum Basilicum* Aqueous Extract in Doxorubicin/Irradiation-Induced Testicular Injury. *J. Pharm. Pharmacol.* **2020**, *72*, 101–110. <https://doi.org/10.1111/jphp.13175>.
36. Lu, Y.; Gao, B.; Chen, P.; Charles, D.; Yu, L. (Lucy). Characterisation of Organic and Conventional Sweet Basil Leaves Using Chromatographic and Flow-Injection Mass Spectrometric (FIMS) Fingerprints Combined with Principal Component Analysis. *Food Chem.* **2014**, *154*, 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.009>.
37. Ye, M.; Yan, Y.; Guo, D. Characterization of Phenolic Compounds in the Chinese Herbal Drug Tu-Si-Zi by Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, *19*, 1469–1484. <https://doi.org/10.1002/rcm.1944>.
38. Farag, M.A.; Ezzat, S.M.; Salama, M.M.; Tadros, M.G. Anti-Acetylcholinesterase Potential and Metabolome Classification of 4 *Ocimum* Species as Determined via UPLC/QTOF/MS and Chemometric Tools. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2016**, *125*, 292–302. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.03.037>.
39. Burducea, M.; Zheljzkov, V.D.; Lobiuc, A.; Pintilie, C.A.; Virgolici, M.; Silion, M.; Asandulesa, M.; Burducea, I.; Zamfirache, M.-M. Biosolids Application Improves Mineral Composition and Phenolic Profile of Basil Cultivated on Eroded Soil. *Sci. Hort.* **2019**, *249*, 407–418. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.004>.
40. Prinsi, B.; Morgutti, S.; Negrini, N.; Faoro, F.; Espen, L. Insight into Composition of Bioactive Phenolic Compounds in Leaves and Flowers of Green and Purple Basil. *Plants* **2019**, *9*, 22. <https://doi.org/10.3390/plants9010022>.
41. Lee, J.; Scagel, C.F. Chicoric Acid Found in Basil (*Ocimum Basilicum* L.) Leaves. *Food Chem.* **2009**, *115*, 650–656. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.075>.
42. Sestili, P.; Ismail, T.; Calcabrini, C.; Guescini, M.; Catanzaro, E.; Turrini, E.; Layla, A.; Akhtar, S.; Fimognari, C. The potential effects of *Ocimum basilicum* on health: A review of pharmacological and toxicological studies. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2018**, *14*, 679–692. <https://doi.org/10.1080/17425255.2018.1484450>.
43. Selvakkumar, C.; Gayathri, B.; Vinaykumar, K.S.; Lakshmi, B.S.; Balakrishnan, A. Potential anti-inflammatory properties of crude alcoholic extract of *Ocimum basilicum* L. in human peripheral blood mononuclear cells. *J. Health Sci.* **2007**, *53*, 500–505.
44. Singh, S. Mechanism of action of anti-inflammatory effect of fixed oil of *Ocimum basilicum* Linn. *Indian J. Exp. Biol.* **1999**, *37*, 248–252.
45. Noor, Z.I.; Ahmed, D.; Rehman, H.M.; Qamar, M.T.; Froeyen, M.; Ahmad, S.; Mirza, M.U. In Vitro Antidiabetic, Anti-Obesity and Antioxidant Analysis of *Ocimum basilicum* Aerial Biomass and in Silico Molecular Docking Simulations with Alpha-Amylase and Lipase Enzymes. *Biology* **2019**, *8*, 92. <https://doi.org/10.3390/biology8040092>.
46. Ghasemzadeh, A.; Ashkani, S.; Baghdadi, A.; Pazoki, A.; Jaafar, H.Z.; Rahmat, A. Improvement in Flavonoids and Phenolic Acids Production and Pharmaceutical Quality of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) by Ultraviolet-B Irradiation. *Molecules* **2016**, *21*, 1203. <https://doi.org/10.3390/molecules21091203>.
47. Amiot, M.J.; Riva, C.; Vinet, A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: A systematic review. *Obes. Rev.* **2016**, *17*, 573–586. <https://doi.org/10.1111/obr.12409>.
48. Ninfali, P. Polyphenols and antioxidant capacity of vegetables under fresh and frozen conditions. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2222–2226. <https://doi.org/10.1021/jf020936m>.
49. Oalđe Pavlović, M.; Kolarević, S.; Đorđević, J.; Jovanović Marić, J.; Lunić, T.; Mandić, M.; Kračun Kolarević, M.; Živković, J.; Alimpić Aradski, A.; Marin, P.D.; et al. A Study of Phytochemistry, Genoprotective Activity, and Antitumor Effects of Extracts of the Selected Lamiaceae Species. *Plants* **2021**, *10*, 2306. <https://doi.org/10.3390/plants10112306>.
50. Sevgi, E.; Dag, A.; Kızırlarlan-Hançer, Ç.; Atasoy, S.; Kurt, B.Z.; Aksakal, Ö. Evaluation of cytotoxic and antioxidant potential of *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter used in traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.* **2021**, *276*, 114211. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114211>.
51. Fraga, C.G.; Croft, K.D.; Kennedy, D.O.; Tomás-Barberán, F.A. The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food Funct.* **2019**, *10*, 514–528. <https://doi.org/10.1039/c8fo01997e>.
52. Yahfoufi, N.; Alsadi, N.; Jambi, M.; Matar, C. The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. *Nutrients* **2018**, *10*, 1618. <https://doi.org/10.3390/nu10111618>.
53. Incalza, M.A.; D’Oria, R.; Natalicchio, A.; Perrini, S.; Laviola, L.; Giorgino, F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vasc. Pharmacol.* **2018**, *100*, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.05.005>.
54. Mercogliano, M.F.; Bruni, S.; Mauro, F.; Elizalde, P.V.; Schillaci, R. Harnessing Tumor Necrosis Factor Alpha to Achieve Effective Cancer Immunotherapy. *Cancers* **2021**, *13*, 564. <https://doi.org/10.3390/cancers13030564>.

55. Meneses, C.C.B.; Pizzatto, L.N.; Andrade, F.F.; Sipert, C.R. Prostaglandin E₂ Affects Interleukin 6 and Monocyte Chemoattractant Protein 1/CCL2 Production by Cultured Stem Cells of Apical Papilla. *J. Endod.* **2020**, *46*, 413–418. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.12.001>.
56. Gomes, A.; Fernandes, E.; Lima, J.L.; Mira, L.; Corvo, M.L. Molecular mechanisms of anti-inflammatory activity mediated by flavonoids. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 1586–1605. <https://doi.org/10.2174/092986708784911579>.
57. Aziba, P.I.; Bass, D.; Elegbe, Y. Pharmacological investigation of *Ocimum gratissimum* in rodents. *Phytother. Res.* **1999**, *13*, 427–429. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1573\(199908/09\)13:5<427::aid-ptr467>3.0.co;2-t](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1573(199908/09)13:5<427::aid-ptr467>3.0.co;2-t).
58. Pires, A.F.; Madeira, S.V.; Soares, P.M.; Montenegro, C.M.; Souza, E.P.; Resende, A.C.; de Soares Moura, R.; Assreuy, A.M.; Criddle, D.N. The role of endothelium in the vasorelaxant effects of the essential oil of *Ocimum gratissimum* in aorta and mesenteric vascular bed of rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **2012**, *90*, 1380–1385. <https://doi.org/10.1139/y2012-095>.
59. Interaminense, L.F.; Jucá, D.M.; Magalhães, P.J.; Leal-Cardoso, J.H.; Duarte, G.P.; Lahlou, S. Pharmacological evidence of calcium-channel blockade by essential oil of *Ocimum gratissimum* and its main constituent, eugenol, in isolated aortic rings from DOCA-salt hypertensive rats. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2007**, *21*, 497–506. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2007.00514.x>.
60. Eftekhari, N.; Moghimi, A.; Hossein Boskabady, M.; Kaveh, M.; Shakeri, F. *Ocimum basilicum* affects tracheal responsiveness, lung inflammatory cells and oxidant-antioxidant biomarkers in sensitized rats. *Drug Chem. Toxicol.* **2019**, *42*, 286–294. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1459672>.
61. Makharia, G.K. Understanding and treating abdominal pain and spasms in organic gastrointestinal diseases: Inflammatory bowel disease and biliary diseases. *J. Clin. Gastroenterol.* **2011**, *45*, S89–S93. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31821fbd82>.
62. Lahlou, S.; Interaminense, L.F.; Leal-Cardoso, J.H.; Morais, S.M.; Duarte, G.P. Cardiovascular effects of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves in rats: Role of the autonomic nervous system. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2004**, *31*, 219–225. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2004.03976.x>.
63. Rashidian, A.; Roohi, P.; Mehrzadi, S.; Ghannadi, A.R.; Minaiyan, M. Protective Effect of *Ocimum basilicum* Essential Oil Against Acetic Acid-Induced Colitis in Rats. *J. Evid. Based Complement. Altern. Med.* **2016**, *21*, NP36–NP42. <https://doi.org/10.1177/2156587215616550>.

DISCUSSION

Discussion

La présente étude décrit les effets phytochimiques et biologiques d'*Ocimum basilicum*, plusieurs études ont montré que le basilic était utilisé pour le traitement de différentes maladies, et possèdent des activités biologiques, par conséquent notre objectif est porté sur la caractérisation de différentes parties aériennes de basilic ; feuilles et tiges avec différents solvant d'extraction, pour l'étude de la composition physicochimique et des effets biologiques.

Les plantes médicinales sont des ressources riches en composés bioactifs importants pour la médecine traditionnelle et la médecine moderne (médicament, complément alimentaire). (**S et al., 2008**). Les méthodes d'extraction des composés bioactifs des plantes nécessitent l'utilisation des solvants sélectifs et différentes procédure standard. Pendant l'extraction, les solvants diffusent dans le matériau solide de la plante et solubilise des composés avec une polarité similaire.

Il existe plusieurs méthodes d'extraction de plantes médicinales notamment la décoction, l'extraction continue à chaud (soxhlet), l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction par ultrasons (sonication)...ect. Les solvants utilisés dans l'extraction, les procédures d'extraction et les différentes parties des plantes peuvent influencer la qualité des extraits (**Fathiazad et al., 2012**).

Afin de caractériser la composition phytocimique du basilic nous avons réalisé des extractions aqueuse et éthanolique par technique de sonication. L'eau est un solvant polaire utilisé pour extraire les produits végétaux. Parmi les composés bioactifs solubles dans l'eau les flavonoïdes (principalement les anthocyanes mais aussi les tannins, les saponines et les terpenoïdes). Dans les extraits éthanoliques on trouve les polyphénols, tannins, flavonoles, terpenoïdes, stérols et alcaloïdes. (**Cowan, 1999**).

Les composés phénoliques fonctionnent en tant qu'antioxydants piègeurs des radicaux libres et jouent un rôle important dans le traitement des maladies tel que le cancer et les maladies cardiovasculaires ...ect (**Ghasemzadeh and Ghasemzadeh, 2011**). Pour cela nous avons mesurer la teneur en composés phénolique (TPC) des extraits d'*Ocimum basilicum* par la méthode de Folin-Ciocalteau, Nos résultats obtenus ont montré que le TPC de l'extrait éthanolique des feuilles était plus élevé 54,79 GAE mg/g par rapport à l'extraits aqueux 35,14 GAE mg/g ainsi que les deux extraits des tiges aqueux et éthanolique 30,75 GAE mg/g et 20,04

GAE mg/g respectivement. **Vlase et al., 2014** ont montré des teneurs plus élevées en TPC $175,57 \pm 2,43$ GAE mg/g des extraits éthanoliques des parties aériennes d'*Ocimum basilicum* par rapport à nos extraits. D'autres études ont trouvé également des teneurs en composés phénoliques important dans l'extraits aqueux d'*Ocimum basilicum* de 146.31 ± 0.04 GAE $\mu\text{g}/\text{mg}$ (**Ibrahim et al., 2020**).

Rezzoug et al., 2019 ont montré que l'extrait éthanolique d'*Ocimum basilicum* avait une teneur en composé phénolique 226 ± 2 GAE mg/g.

Selon **Lapornik et al., 2005** les extraits éthanoliques des plantes présentent une quantité plus élevée en polyphénols par rapport aux extraits aqueux ; la différence de quantité polyphénolique présente dans les extraits peut être due à la dégradation des polyphénols par l'enzyme polyphénol oxydase dans les extraits aqueux alors que dans les extraits éthanoliques cette enzyme est inactif. Ces données confirment nos résultats obtenus.

Ces dernières années, diverses techniques ont été utilisées pour estimer le pouvoir antioxydant des substances et des aliments. Parmi ces techniques, les plus utilisées sont : DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et ORAC. (**Araújo Couto et al., 2019**). La variété des méthodes est due aux différents mécanismes de l'activité antioxydante. Ces méthodes peuvent agir principalement en transférant des atomes d'hydrogène, en donnant des électrons et en chélatant des métaux de transition (**Prior et al., 2005**).

Pour évaluer les propriétés antioxydantes des extraits de basilic nous avons utilisé ces deux méthodes DPPH et ORAC. Nos résultats du DPPH indiquent que tous les extraits présentent une activité antioxydantes à la concentration 1mg/ml. Les pourcentages d'inhibition les plus élevés étaient enregistrés par les extraits éthanoliques de basilic 39,96 % pour l'extrait de feuille éthanolique (Fe) et 39,39 % pour l'extrait de tige éthanolique (Te), les extraits aqueux ont présenté des pourcentages d'inhibition plus faibles par rapport aux extraits éthanoliques les valeurs était de 17,66 % pour feuille aqueux (Fa) et 16,96 % pour tiges aqueux (Ta).

Plusieurs recherches ont montré que le basilic a des activité antioxydantes, l'huile essentielle de basilic à une capacité de piégeages des radicaux libres DPPH avec une IC_{50} de 2.008 ± 0.128 mg/mL (**Li et al., 2017**). Cette activité antioxydante est moins importantes en comparaison avec nos résultats.

Les résultats de **Rezzoug et al., 2019** ont montré que l'extrait éthanolique de basilic à une capacité antioxydante importante de piégeage du radical DPPH avec une IC_{50} $0,679 \pm 0,03$

mg/ml. D'autres études ont montré une activité antioxydante plus forte de piégeage du DPPH (IC_{50} : 104,72 μ g/ml) par l'extrait méthanolique des feuilles de basilic (**Ironi et al., 2016**).

Selon (**Fathiazad et al., 2012**). Le pouvoir de piégeage des radicaux libres de l'extrait éthanolique de basilic (IC_{50}) était de 22,24 μ g/ml.

Pour le test ORAC les extraits de feuilles ont présenté une activité antioxydante plus élevée en comparaison avec les tiges. Donc les deux tests DPPH et ORAC ont montré une activité antioxydante sur l'ensemble des extraits avec des différences de piégeages des radicaux libres DPPH et APPH qui peuvent être dus aux différents composés bioactifs trouvés dans chaque extrait.

(**Makri and Kintzios, 2008**) ont rapporté que les principaux composés antioxydants contenus dans les extraits de basilic sont : l'acide chlorogénique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide caféique, l'acide vanillique et rosmarinique ainsi que l'apigénine, la quercétine et la rutine.

Dans les systèmes biologiques vivants, les concentrations élevées en oxyde nitrique et ses dérivés oxydés tel que le peroxy-nitrite sont connus pour être toxiques. Ils ont également la capacité de blesser les cellules et les tissus ce qui peut générer par la suite différentes pathologies (**Sueishi et al., 2011**).

Nous avons également évalué la capacité antioxydante de piégeage de l'oxyde nitrique (NO) par les extraits éthanoliques des feuilles et tiges d'*Ocimum basilicum*. Nos résultats ont montré que les deux extraits ont piégé le NO de manière dose dépendante avec des pourcentages d'environ 50% à 11% .

Les macrophages jouent un rôle majeur dans la pathogenèse de nombreuses maladies inflammatoires et auto-immunes notamment : les maladies cardiovasculaires, les maladies inflammatoires de l'intestin, l'asthme, le cancer, diabète de type 2, l'obésité. (**Shapouri-Moghaddam et al., 2018**). Une fois activés par les agents pathogènes, les macrophages produisent de grandes quantités de TNF- α , IL-1 β et IL-6, de chimiokines, d'oxyde nitrique (NO) et de dérivés de l'acide arachidonique tels que le tromboxane A₂ et la prostaglandine E₂. (**Vinolo et al., 2011**).

Selon nos résultats préliminaires de l'activité antioxydante, les extraits éthanoliques ont présenté une activité plus importante par rapport aux extraits aqueux. Sur cette base nous avons sélectionné les extraits éthanoliques pour évaluer ces propriétés anti-inflammatoires. Pour étudier les effets anti-inflammatoires des extraits éthanoliques des feuilles et tiges de basilic *in vitro* dans des macrophages J774.A1, nous avons d'abord évalué leurs effets cytotoxiques sur la viabilité cellulaire. Nos résultats indiquent que les différentes concentrations des deux extraits n'ont aucun effet cytotoxique.

Plusieurs médiateurs de l'inflammation ont été étudiés afin de caractériser les effets anti-inflammatoires des extraits de basilic. Les résultats obtenus pour le dosage de NO sur les macrophages J774.A1 stimulés par LPS/IFN γ montrent que les deux extraits d'*Ocimum basilicum* ont un effet inhibiteur de la production de NO de manière dose-dépendante mais l'extrait des tiges a présenté le plus d'effet en comparaison avec les feuilles 66,18% et 56,95% à la concentration 200 μ g/ml.

D'autres études ont également confirmé que l'extrait méthanolique d'*Ocimum basilicum* a un effet inhibiteur sur la production de NO par les macrophages RAW 264.7 de manière dose-dépendante 10 à 4 μ mol avec 20 μ g /mL et 50 μ g/mL respectivement. (Selvakkumar et al., 2007)

Les flavonoïdes ont des propriétés anti-inflammatoires par différents mécanismes tels que l'inhibition des enzymes régulatrices et des facteurs de transcription qui jouent un rôle important dans le contrôle des médiateurs impliqués dans l'inflammation. (Maleki et al., 2019) Le basilic est connu pour sa richesse en flavonoïdes tel que la quercétine, la lutéoline (Rezzoug et al., 2019; Vlase et al., 2014b) et l'Apégenine. (Mousavi et al., 2020b). Une étude a montré que la quercétine, l'apigénine et la lutéoline ont un effet inhibiteur de la production de NO dans les macrophages RAW264.7 traités par lipopolysaccharide, (Serafini et al., 2010).

L'interleukine-6 (IL-6) est une cytokine pro-inflammatoire qui est produite par les cellules lymphoïdes et non lymphoïdes. L'IL-6 joue un rôle important dans la régulation de la réponse immunitaire et de l'inflammation, dans la pathogenèse de diverses maladies, en particulier les maladies chroniques comme l'inflammation, les maladies auto-immunes, les infections virales (Kang et al., 2001).

Pour cela nous avons évalué l'effet anti-inflammatoire des tiges et feuilles d'*ocimum basilicum* dans des macrophages J774.A1 stimulés par LPS/IFN γ . Les résultats ont montré que les deux

extraits inhibent la production d'IL-6 de manière dose dépendent mais les feuilles ont présenté un effet plus faible inhibiteur (62,43%) en comparaison avec les tiges 88,87% à la plus forte concentration 200µg/mL.

Une étude antérieure a démontré l'effet anti-inflammatoire de l'huile essentielle de basilic comme la diminution de la production de cytokine pro-inflammatoire IL-6 à 2300 pg/mL en comparaison avec LPS 2900 pg/mL dans un modèle de macrophage Raw264.7(Li et al., 2017).

Le TNF- α est une protéine 17-kDa non glycosylée, principalement produite dans les macrophages, les CD4+, mais aussi les lymphocytes T CD8+, les cellules NK activées et les neutrophiles. (Möller and Villiger, 2006). Le TNF- α , est une cytokine pro-inflammatoire qui joue un rôle important dans le système immunitaire lors de l'inflammation, de la prolifération cellulaire, de la différenciation et de l'apoptose (Baud and Karin, 2001).

Dans notre étude nous avons évalué l'effet anti-inflammatoire des extraits éthanoliques de basilic sur la production de TNF α . Les résultats obtenus suggèrent que les tiges et les feuilles n'ont pas un effet inhibiteur sur la production de cette cytokine pro-inflammatoire, mais ont au contraire générer une stimulation avec des valeurs de 128% à 139% et de 123% à 137% pour les feuilles et les tiges respectivement. Alors que Li et al., 2017 a montré que l'huile essentielle de basilic à un effet inhibiteur sur la production de TNF α environ 26% à la concentration 20 µg/mL.

MCP-1 Protéine chimiotactique monocyttaire 1 appartient à la famille des chimiokines Elle orchestre le recrutement des cellules immunitaires vers des sites spécifiques, est exprimé de manière constitutive pour les fonctions homéostatiques telles que la régulation du trafic lymphocytaire du sang vers les ganglions lymphatiques, est induit lors des réponses inflammatoires lorsque les leucocytes sont nécessaires à la défense et à la réparation des tissus (Lim et al., 2016).

Nous avons également identifié l'effet des extraits éthanoliques de basilic sur la production de MCP1. Nos données ont rapporté que les deux extraits ont diminué la production de MCP1 mais les tiges ont présenté un effet plus élevé par rapport aux feuilles.

Marino et al., 2008 ont constaté que l'IL-6 induit la sécrétion de MCP-1 dans des cellules myoblastes. Nos résultats précédents montrent qu'il avait une inhibition d'IL-6 et MCP1 dans les macrophages traités par le basilic. On peut donc supposer que la diminution de MCP1 est liée à la diminution d'IL-6.

Takeuchi et al., 2020 ont démontré que l'extrait méthanolique de feuilles d'*ocimum basilicum* a diminué l'expression des gènes des cytokines pro-inflammatoire (CCL2, IL-6, TNF α) ainsi que celle de la protéine d'IL-6 à la concentration 25 μ g/mL dans un modèle de co-culture d'adipocytes 3T3-L1 et macrophages RAW264.7.

Les prostaglandines E2 (PGE2) sont des médiateurs lipidiques bioactifs générés à partir de l'acide arachidonique via des cyclooxygénases (COX) et des prostaglandine synthases spécifiques. (**Yao and Narumiya, 2019**). La cyclooxygénase-2 (COX-2) pourrait induire l'expression de la prostaglandine E2 (PGE2) pour aggraver l'inflammation des tissus en favorisant le niveau de divers facteurs inflammatoires, tels que les interleukines et le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) (**Kudo and Murakami, 2002**).

Dans notre étude nous avons évalué l'effet de l'extrait éthanolique des tiges d'*O basilicum* sur la production de prostaglandine E2 (PGE2). Nos résultats suggèrent que l'extrait de tiges a réduit la production de PGE2 à des valeurs importantes de 62,88 % à la plus forte concentration 200 μ g/mL.

Dans un modèle de cellules macrophages RAW264.7 stimulé par LPS **Raina et al., 2016** ont trouvé que l'extrait méthanolique des parties aériennes d'*O basilicum* a induit une diminution de la production des médiateurs de l'inflammation PGE2 à 12,97% ainsi que le NO à 20,40% à la concentration 100 μ g/mL.

Le Facteur nucléaire kappaB NF- κ B est un hétérodimère composé de p50 et p65, qui fonctionne principalement comme activateur transcriptionnel. NF- κ B est changé en forme active par les cytokines, le LPS et le stress oxydatif, après quoi il régule la COX-2 et l'iNOS par l'initiation de la transcription des gènes cibles. Cependant **Park et al., 2012** ont montré que les polyphénols ont un effet inhibiteur de la translocation de la protéine NF- κ B. D'autres auteurs ont également confirmé que ces polyphénols ont la capacité de diminuer l'expression du gène NF- κ B qui peut être expliqué par leur effet sur la diminution de la production des cytokines pro-inflammatoires. (**Marimoutou et al., 2015**)

Le traitement de certains troubles gastro-intestinaux est orienté vers l'inhibition de la contraction musculaire. Les médicaments à base de plantes sont traditionnellement utilisés pour leurs propriétés spasmolytiques (**Karim et al., 2010**). La contraction de muscle lisse est initiée par une augmentation de la concentration de Ca^{2+} extracellulaire ou intracellulaire (**Kuo and Ehrlich, 2015**).

Pour étudier l'effet antispasmodique d'*ocimum basilicum* nous avons choisi les extraits aqueux pour cette partie puisque les extraits éthanoliques ont un effet délétère sur les muscles lisses intestinaux. Nous avons utilisé un modèle d'organe isolé, le jéjunum de rat contracté avec le BaCL2 et la méthacholine,

Les résultats obtenus ont montré que les extraits aqueux de feuilles et tiges d'*ocimum basilicum* ont exercé un effet inhibiteur sur la contraction de muscle lisse intestinal jéjunum de rat, cette inhibition a induit leur relaxation de manière dose dépendante, avec des valeurs de relaxation plus important de 100% à 33%, cette relaxation est similaire au témoin aminophylline.

Des études antérieures ont montré que l'extrait hydro-méthanolique des parties aériennes d'*ocimum basilicum* a un effet antispasmodique sur les contractions induite dans l'iléon de cobaye (**Janbaz et al., 2014**).

Les résultats de **Eftekhar et al. 2019** ont rapporté également que l'extrait hydro éthanolique de feuille de basilic a diminué le tonus contractile du muscle lisse trachéal induit par la méthacholine et le KCl de manière dose-dépendante.

La plupart des plantes utilisées comme antispasmodiques fonctionnent principalement par deux mécanismes : en bloquant les canaux calciques dans les intestins et en provoquant la relaxation ou en ouvrant les canaux potassiques et en produisant un effet relaxant dans l'intestin (**Uchida et al., 2011**).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Ocimum basilicum communément appelé basilic est une plante herbacée aromatique connue sous le nom « Roi des herbes ». Il est cultivé partout dans le monde entier ; son utilisation est vaste notamment dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique grâce à sa richesse en composés bioactifs. Il est également utilisé pour le traitement de différentes maladies comme une plante médicinale. Cependant il existe très peu d'étude décrivant les propriétés biologiques des tiges de basilic. L'objectif de ce travail a été porté sur la caractérisation chimique et l'évaluation des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antispasmodiques des extraits de feuilles et tiges d'*Ocimum basilicum*.

Premièrement nous avons réalisé une extraction des tiges et feuilles de basilic avec deux solvants polaires, ces extraits ont été utilisés afin de les caractériser et d'évaluer ces différentes propriétés biologiques.

La caractérisation des extraits de tiges et feuilles de basilic nous a permis d'identifier différents composés bioactifs. Nous avons pu identifier quelques composés polyphénoliques en comparaison avec ce qui est trouvé dans la littérature, principalement l'acide rosmarinique, la rutine et la salvigenine. En outre l'ensemble des extraits présentent une différence au niveau de ces composés identifiés, ce qui caractérise les différentes propriétés de tiges et feuilles. La quantification des polyphénols totaux nous a permis également d'observer une différence en teneur de composés dans chaque extrait.

La détermination des propriétés antioxydantes des extraits de basilic par le test DPPH, ORAC ainsi que le piégeage de NO ont montré que l'ensemble des extraits ont un effet anti-radicalaire plus important présentant d'une manière différentielle entre les tiges et les feuilles.

Par la suite nous avons évalué les propriétés anti-inflammatoires des extraits éthanoliques dans un modèle *in vitro* macrophages J774.A1 stimulé par l'association LPS/IFN γ . Nos résultats ont montré que les extraits de tiges ont présenté un effet plus important dans l'inhibition de la production des médiateurs pro-inflammatoires (NO, IL-6, MCP1 et la PGE2). En revanche on a enregistré un effet sur l'augmentation de la production de TNF α par les feuilles et les tiges.

La dernière partie a porté sur l'évaluation de l'activité antispasmodique des extraits aqueux sur un modèle animal : jéjunum de rat contracté avec le BaCl $_2$ et méthacholine ce qui nous a permis de montrer que les feuilles et les tiges ont un effet inhibiteur de la contraction musculaire.

En conclusion les deux parties aériennes d'*Ocimum basilicum* feuilles et tiges ont présenté des propriétés biologiques très importantes dans l'oxydation, l'inflammation et les effets spasmolytiques. Des études approfondies sont nécessaires pour expliquer les différents mécanismes liés à ces effets biologiques et de mieux caractériser les effets de chaque composé bioactif pour les valoriser au plan pharmacologique pour le traitement de différentes pathologies ainsi qu'au niveau nutritionnel et alimentaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Adebolu, T.T., Oladimeji, S.A., 2005. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* on selected diarrhoea causing bacteria in southwestern Nigeria. *Afr. J. Biotechnol.* 4, 682–684. <https://doi.org/10.4314/ajb.v4i7.15166>

Adigüzel, A., Güllüce, M., Şengül, M., Öğütçü, H., Şahin, F., Karaman, İ., 2005. Antimicrobial Effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) Extract. *Turk. J. Biol.* 29, 155–160.

Akira, S., Uematsu, S., Takeuchi, O., 2006. Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell* 124, 783–801. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.015>

Akuji, M.A., Chambers, D.J., 2017. Hydrogen peroxide: more harm than good? *Br. J. Anaesth.* 118, 958–959. <https://doi.org/10.1093/bja/aex151>

Alberti, M.N., Orfanopoulos, M., 2010. Unraveling the Mechanism of the Singlet Oxygen Ene Reaction: Recent Computational and Experimental Approaches. *Chem. – Eur. J.* 16, 9414–9421. <https://doi.org/10.1002/chem.201000752>

Aldrovandi, M., Banthiya, S., Meckelmann, S., Zhou, Y., Heydeck, D., O'Donnell, V.B., Kuhn, H., 2018. Specific oxygenation of plasma membrane phospholipids by *Pseudomonas aeruginosa* lipoxygenase induces structural and functional alterations in mammalian cells. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1863, 152–164. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2017.11.005>

Alvarez, M.N., Piacenza, L., Irigoín, F., Peluffo, G., Radi, R., 2004. Macrophage-derived peroxynitrite diffusion and toxicity to *Trypanosoma cruzi*. *Arch. Biochem. Biophys.* 432, 222–232. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2004.09.015>

Aminian, A.R., Mohebbati, R., Boskabady, M.H., 2022. The Effect of *Ocimum basilicum* L. and Its Main Ingredients on Respiratory Disorders: An Experimental, Preclinical, and Clinical Review. *Front. Pharmacol.* 12.

Amulic, B., Cazalet, C., Hayes, G.L., Metzler, K.D., Zychlinsky, A., 2012. Neutrophil Function: From Mechanisms to Disease. *Annu. Rev. Immunol.* 30, 459–489. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-074942>

Anand, P., Sundaram, C., Jhurani, S., Kunnumakkara, A.B., Aggarwal, B.B., 2008. Curcumin and cancer: An “old-age” disease with an “age-old” solution. *Cancer Lett.* 267, 133–164. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.03.025>

Angel, C., 2007. The Ability of Melatonin to Counteract Lipid Peroxidation in Biological Membranes. *Curr. Mol. Med.* 7, 638–649.

Antonescu (Mintas), A.-I., Miere (Groza), F., Fritea, L., Ganea, M., Zdrinca, M., Dobjanschi, L., Antonescu, A., Vicas, S.I., Bodog, F., Sindhu, R.K., Cavalu, S., 2021. Perspectives on the Combined Effects of *Ocimum basilicum* and *Trifolium pratense* Extracts in Terms of Phytochemical Profile and Pharmacological Effects. *Plants* 10, 1390. <https://doi.org/10.3390/plants10071390>

Antora, R.A., Salleh, R.M., 2017. Antihyperglycemic effect of *Ocimum* plants: A short review. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 7, 755–759. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.07.010>

Araújo Couto, H.G.S. de, Blank, A.F., Oliveira e Silva, A.M. de, Nogueira, P.C. de L., Arrigoni Blank, M. de F., Nizio, D.A. de C., Pinto, J.A. de O., 2019. Essential oils of basil chemotypes: Major compounds, binary mixtures, and antioxidant activity. *Food Chem.* 293, 446–454. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.078>.

Arock, M., 2021. Le polynucléaire basophile : du contrôle de l'immunité à celui des leucémies. *Ann. Pharm. Fr.* <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2021.05.005>

Arulselvan, P., Fard, M.T., Tan, W.S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M.E., Kumar, S.S., 2016. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016, e5276130. <https://doi.org/10.1155/2016/5276130>

B

Baczek, K., Kosakowska, O., Gniewosz, M., Gientka, I., Węglarz, Z., 2019. Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Productivity and Raw Material Quality from Organic Cultivation. *Agronomy* 9, 279. <https://doi.org/10.3390/agronomy9060279>

Bagchi, K., Puri, S., 1998. Free radicals and antioxidants in health and disease: A review. *EMHJ-East. Mediterr. Health J.* 4 2 350-360 1998.

Barros, L., Dueñas, M., Dias, M.I., Sousa, M.J., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R., 2013. Phenolic profiles of cultivated in vitro cultured and commercial samples of *Melissa officinalis* L. infusions. *Food Chem.* 136, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.107>.

Baud, V., Karin, M., 2001. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol.* 11, 372–377. [https://doi.org/10.1016/S0962-8924\(01\)02064-5](https://doi.org/10.1016/S0962-8924(01)02064-5)

Beck-Sickinger, A.G., Panitz, N., 2014. Semi-synthesis of chemokines. *Curr. Opin. Chem. Biol., Synthetic biology • Synthetic biomolecules* 22, 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.09.024>

Bekut, M., Brkić, S., Kladar, N., Dragović, G., Gavarić, N., Božin, B., 2018. Potential of selected Lamiaceae plants in anti(retro)viral therapy. *Pharmacol. Res.* 133, 301–314. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.12.016>

Belperio, J.A., Keane, M.P., Arenberg, D.A., Addison, C.L., Ehlert, J.E., Burdick, M.D., Strieter, R.M., 2000. CXC chemokines in angiogenesis. *J. Leukoc. Biol.* 68, 1–8. <https://doi.org/10.1189/jlb.68.1.1>

Beutler, B., Jiang, Z., Georgel, P., Crozat, K., Croker, B., Rutschmann, S., Du, X., Hoebe, K., 2006. GENETIC ANALYSIS OF HOST RESISTANCE: Toll-Like Receptor Signaling and

Immunity at Large. *Annu. Rev. Immunol.* 24, 353–389.
<https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.24.021605.090552>

Bhandoola, A., Sambandam, A., 2006. From stem cell to T cell: one route or many? *Nat. Rev. Immunol.* 6, 117–126. <https://doi.org/10.1038/nri1778>

Bilal, A., Jahan, N., MAKBUL, S., Bilal, S.N., Habib, S., Hajra, S., 2012. Phytochemical and pharmacological studies on *Ocimum basilicum*. *Int J Curr Res Rev* 4, 73–83.

Bitar, K.N., 2003. Function of gastrointestinal smooth muscle: from signaling to contractile proteins. *Am. J. Med.* 115, 15–23. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(03\)00189-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(03)00189-X)

Blanksby, S.J., Ellison, G.B., 2003. Bond Dissociation Energies of Organic Molecules. *Acc. Chem. Res.* 36, 255–263. <https://doi.org/10.1021/ar020230d>

Boudreau, J.E., Hsu, K.C., 2018. Natural Killer Cell Education and the Response to Infection and Cancer Therapy: Stay Tuned. *Trends Immunol.* 39, 222–239.
<https://doi.org/10.1016/j.it.2017.12.001>

Bowman, G.L., Shannon, J., Frei, B., Kaye, J.A., Quinn, J.F., 2010. Uric Acid as a CNS Antioxidant. *J. Alzheimers Dis.* 19, 1331–1336. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1330>

Branco, A.C.C.C., Yoshikawa, F.S.Y., Pietrobon, A.J., Sato, M.N., 2018. Role of Histamine in Modulating the Immune Response and Inflammation. *Mediators Inflamm.* 2018, e9524075.
<https://doi.org/10.1155/2018/9524075>

Broz, M.L., Binnewies, M., Boldajipour, B., Nelson, A.E., Pollack, J.L., Erle, D.J., Barczak, A., Rosenblum, M.D., Daud, A., Barber, D.L., Amigorena, S., van't Veer, L.J., Sperling, A.I., Wolf, D.M., Krummel, M.F., 2014. Dissecting the Tumor Myeloid Compartment Reveals Rare Activating Antigen-Presenting Cells Critical for T Cell Immunity. *Cancer Cell* 26, 638–652.
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2014.09.007>

Buchanan, M.M., Hutchinson, M., Watkins, L.R., Yin, H., 2010. Toll-like receptor 4 in CNS pathologies. *J. Neurochem.* 114, 13–27. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06736.x>

C

Carvajal, J., Germain, A., Huidobro-Toro, J., Weiner, C., 2000. Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. *J. Cell. Physiol.* 184, 409–420. [https://doi.org/10.1002/1097-4652\(200009\)184:3<409::AID-JCP16>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/1097-4652(200009)184:3<409::AID-JCP16>3.0.CO;2-K)

Casanova, L.M., Espíndola-Netto, J.M., Tinoco, L.W., Sola-Penna, M., Costa, S.S., 2016. The Use of NMR Metabolite Profiling and in vivo Hypoglycemic Assay for Comparison of Unfractionated Aqueous Leaf Extracts of Two *Ocimum* Species. *Chem. Biodivers.* 13, 686–694. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201500180>

Chance, B., Sies, H., Boveris, A., 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* 59, 527–605. <https://doi.org/10.1152/physrev.1979.59.3.527>

Chang, X., Alderson, P., Wright, C., 2005. Effect of temperature integration on the growth and volatile oil content of basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 80(5), 593–598. <https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511983>

Cheeseman, K.H., Slater, T.F., 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 49, 481–493. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072625>

Chey, W.Y., Jin, H.O., Lee, M.H., Sun, S.W., Lee, K.Y., 2001. Colonic motility abnormality in patients with irritable bowel syndrome exhibiting abdominal pain and diarrhea. *Am. J. Gastroenterol.* 96, 1499–1506. [https://doi.org/10.1016/S0002-9270\(01\)02367-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9270(01)02367-X)

Chorny, A., Gonzalez-Rey, E., Varela, N., Robledo, G., Delgado, M., 2006. Signaling mechanisms of vasoactive intestinal peptide in inflammatory conditions. *Regul. Pept., Molecular and Cellular Mechanisms of VIP, PACAP and Secretin Signaling Applied to Systems Biology* 137, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2006.04.021>

Choumar, A., Tarhuni, A., Lettéron, P., Reyl-Desmars, F., Dauhoo, N., Damasse, J., Vadrot, N., Nahon, P., Moreau, R., Pessayre, D., Mansouri, A., 2011. Lipopolysaccharide-Induced Mitochondrial DNA Depletion. *Antioxid. Redox Signal.* 15, 2837–2854. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3713>

Christie, W.W., Harwood, J.L., 2020. Oxidation of polyunsaturated fatty acids to produce lipid mediators. *Essays Biochem.* 64, 401–421. <https://doi.org/10.1042/EBC20190082>

Cong, X., Kong, W., 2020. Endothelial tight junctions and their regulatory signaling pathways in vascular homeostasis and disease. *Cell. Signal.* 66, 109485. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.109485>

Cook, N.C., Samman, S., 1996. Flavonoids—Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J. Nutr. Biochem.* 7, 66–76. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(95\)00168-9](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(95)00168-9)

Cook-Mills, J.M., Deem, T.L., 2005. Active participation of endothelial cells in inflammation. *J. Leukoc. Biol.* 77, 487–495. <https://doi.org/10.1189/jlb.0904554>

Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 564–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>.

Cox, A.G., Winterbourn, C.C., Hampton, M.B., 2009. Mitochondrial peroxiredoxin involvement in antioxidant defence and redox signalling. *Biochem. J.* 425, 313–325. <https://doi.org/10.1042/BJ20091541>

Currò, D., 2016. Chapter Seven - The Modulation of Potassium Channels in the Smooth Muscle as a Therapeutic Strategy for Disorders of the Gastrointestinal Tract, in: Donev, R. (Ed.), *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology, Ion Channels as Therapeutic Targets, Part B*. Academic Press, pp. 263–305. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2015.12.002>

D

Dai, L., Brookes, P.S., Darley-Usmar, V.M., Anderson, P.G., 2001. Bioenergetics in cardiac hypertrophy: mitochondrial respiration as a pathological target of NO[•]. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.* 281, H2261–H2269. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2001.281.6.H2261>

Daugan, M., Noe, R., Fridman, W.H., Sautes-Fridman, C., Roumenina, L.T., 2017. Le système du complément - Une épée à double tranchant dans la progression tumorale. *Médecine/sciences* 33, 871–877. <https://doi.org/10.1051/medsci/20173310019>

Davies, L.C., Taylor, P.R., 2015. Tissue-resident macrophages: then and now. *Immunology* 144, 541–548. <https://doi.org/10.1111/imm.12451>

Del Giudice, M., Gangestad, S.W., 2018. Rethinking IL-6 and CRP: Why they are more than inflammatory biomarkers, and why it matters. *Brain. Behav. Immun.* 70, 61–75. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.02.013>

Delgado, M., Pozo, D., Ganea, D., 2004. The Significance of Vasoactive Intestinal Peptide in Immunomodulation. *Pharmacol. Rev.* 56, 249–290. <https://doi.org/10.1124/pr.56.2.7>

Dellgren, C., Gad, H.H., Hamming, O.J., Melchjorsen, J., Hartmann, R., 2009. Human interferon- λ 3 is a potent member of the type III interferon family. *Genes Immun.* 10, 125–131. <https://doi.org/10.1038/gene.2008.87>

De Masi, L., Siviero, P., Esposito, C., Castaldo, D., Siano, F., Laratta, B., 2006. Assessment of agronomic, chemical and genetic variability in common basil (*Ocimum basilicum* L.). *Eur. Food Res. Technol.* 223, 273. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0201-0>

DesJardins-Park, H.E., Foster, D.S., Longaker, M.T., 2018. Fibroblasts and wound healing: an update. *Regen. Med.* 13, 491–495. <https://doi.org/10.2217/rme-2018-0073>

Dinarelli, C.A., 2018. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol. Rev.* 281, 8–27. <https://doi.org/10.1111/imr.12621>

Dixon, S.J., Lemberg, K.M., Lamprecht, M.R., Skouta, R., Zaitsev, E.M., Gleason, C.E., Patel, D.N., Bauer, A.J., Cantley, A.M., Yang, W.S., Morrison, B., Stockwell, B.R., 2012. Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell* 149, 1060–1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>

do Prado, N.B., de Abreu, C.B., Pinho, C.S., Junior, M.M. de N., Silva, M.D., Espino, M., Silva, M.F., Dias, F. de S., 2022. Application of multivariate analysis to assess stress by Cd, Pb and Al in basil (*Ocimum basilicum* L.) using caffeic acid, rosmarinic acid, total phenolics, total flavonoids and total dry mass in response. *Food Chem.* 367, 130682. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130682>

Doeing, D.C., Borowicz, J.L., Crockett, E.T., 2003. Gender dimorphism in differential peripheral blood leukocyte counts in mice using cardiac, tail, foot, and saphenous vein puncture methods. *BMC Clin. Pathol.* 3, 3. <https://doi.org/10.1186/1472-6890-3-3>

Dong, C., 2021. Cytokine Regulation and Function in T Cells. *Annu. Rev. Immunol.* 39, 51–76. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-061020-053702>

Dong, J., Zhu, Y., Gao, X., Chang, Y., Wang, M., Zhang, P., 2013. Qualitative and quantitative analysis of the major constituents in Chinese medicinal preparation Dan-Lou tablet by ultra high-performance liquid chromatography/diode-array detector/quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 80, 50–62. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.02.011>

Dröge, W., 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol. Rev.* 82, 47–95. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>

Duangjai, A., Rukachaisirikul, V., Sukpondma, Y., Srimaroeng, C., Muanprasat, C., 2021. Antispasmodic Effect of Asperidine B, a Pyrrolidine Derivative, through Inhibition of L-Type Ca²⁺ Channel in Rat Ileal Smooth Muscle. *Molecules* 26, 5492. <https://doi.org/10.3390/molecules26185492>

Dugas, A.J., Castañeda-Acosta, J., Bonin, G.C., Price, K.L., Fischer, N.H., Winston, G.W., 2000. Evaluation of the Total Peroxyl Radical-Scavenging Capacity of Flavonoids:

Structure–Activity Relationships. *J. Nat. Prod.* 63, 327–331. <https://doi.org/10.1021/np990352n>

Dyall, S.C., 2015. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Front. Aging Neurosci.* 7, 52. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00052>

E

Eftekhari, N., Moghimi, A., Hossein Boskabady, M., Kaveh, M., Shakeri, F., 2019. *Ocimum basilicum* affects tracheal responsiveness, lung inflammatory cells and oxidant–antioxidant biomarkers in sensitized rats. *Drug Chem. Toxicol.* 42, 286–294. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1459672>

El-Agamey, A., Lowe, G.M., McGarvey, D.J., Mortensen, A., Phillip, D.M., Truscott, T.G., Young, A.J., 2004. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch. Biochem. Biophys.*, Highlight issue on Carotenoids 430, 37–48. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2004.03.007>

F

Fathiazad, F., Matlobi, A., Khorrami, A., Hamedeyazdan, S., Soraya, H., Hammami, M., Maleki-Dizaji, N., 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 J. Fac. Pharm. Tehran Univ. Med. Sci.* 20, 87. <https://doi.org/10.1186/2008-2231-20-87>

Feriel, J., Depasse, F., Geneviève, F., 2020. How I investigate basophilia in daily practice. *Int. J. Lab. Hematol.* 42, 237–245. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13146>

Firuzi, O., Mladênka, P., Petrucci, R., Marrosu, G., Saso, L., 2010. Hypochlorite scavenging activity of flavonoids. *J. Pharm. Pharmacol.* 56, 801–807. <https://doi.org/10.1211/0022357023556>

Förstermann, U., Sessa, W.C., 2012. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart J.* 33, 829–837. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>

Frąszczak, B., Knaflewski, M., 2009. Effect of Light Conditions and Temperature on Fresh Yield of Some Spice Plants Grown in Containers. *Veg. Crops Res. Bull.* 71, 59.

G

Gajraj, N.M., 2003. Cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Anesth. Analg.* 96, 1720–1738. <https://doi.org/10.1213/01.ANE.0000061461.55712.C5>

Galli, S.J., Maurer, M., Lantz, C.S., 1999. Mast cells as sentinels of innate immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 11, 53–59. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(99\)80010-7](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(99)80010-7)

Gandhi, S., Abramov, A.Y., 2012. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2012, 428010. <https://doi.org/10.1155/2012/428010>

Ganesan, K., Xu, B., 2017a. Polyphenol-Rich Dry Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and Their Health Benefits. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 2331. <https://doi.org/10.3390/ijms18112331>

Ganesan, K., Xu, B., 2017b. A Critical Review on Polyphenols and Health Benefits of Black Soybeans. *Nutrients* 9, 455. <https://doi.org/10.3390/nu9050455>

Gardner, A., Ruffell, B., 2016. Dendritic Cells and Cancer Immunity. *Trends Immunol.* 37, 855–865. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.09.006>

Garraud, O., Damien, P., Berthet, J., Arthaud, C.-A., Hamzeh-Cognasse, H., Cognasse, F., 2011. Plaquettes sanguines, réponses aux signaux de danger infectieux et inflammation : vers un nouveau paradigme ? *Transfus. Clin. Biol.*, XXVe congrès de la SFTS Lyon 4-6 mai 2011 18, 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2011.02.012>

Germolec, D.R., Shipkowski, K.A., Frawley, R.P., Evans, E., 2018. Markers of Inflammation, in: DeWitt, J.C., Rockwell, C.E., Bowman, C.C. (Eds.), *Immunotoxicity Testing: Methods and Protocols*, *Livres Methods in Molecular Biology*. Springer, New York, NY, pp. 57–79. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4_5

Gerritsen, B., Pandit, A., 2016. The memory of a killer T cell: models of CD8+ T cell differentiation. *Immunol. Cell Biol.* 94, 236–241. <https://doi.org/10.1038/icb.2015.118>

Ghasemzadeh, A., Ashkani, S., Baghdadi, A., Pazoki, A., Jaafar, H.Z.E., Rahmat, A., 2016. Improvement in Flavonoids and Phenolic Acids Production and Pharmaceutical Quality of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) by Ultraviolet-B Irradiation. *Molecules* 21, 1203. <https://doi.org/10.3390/molecules21091203>

Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N., 2011. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1404>

Gil, H., Bouldoires, B., Bailly, B., Meaux Ruault, N., Humbert, S., Magy-Bertrand, N., 2019. L'éosinopénie en 2018. *Rev. Médecine Interne* 40, 173–177. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2018.11.008>

Giulivi, C., 1998. Functional implications of nitric oxide produced by mitochondria in mitochondrial metabolism. *Biochem. J.* 332, 673–679. <https://doi.org/10.1042/bj3320673>

Gladka, M.M., Molenaar, B., de Ruiter, H., van der Elst, S., Tsui, H., Versteeg, D., Lacraz, G.P.A., Huibers, M.M.H., van Oudenaarden, A., van Rooij, E., 2018. Single-Cell Sequencing of the Healthy and Diseased Heart Reveals Cytoskeleton-Associated Protein 4 as a New Modulator of Fibroblasts Activation. *Circulation* 138, 166–180. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030742>

Görlach, A., Brandes, R.P., Nguyen, K., Amidi, M., Dehghani, F., Busse, R., 2000. A gp91phox Containing NADPH Oxidase Selectively Expressed in Endothelial Cells Is a Major Source of Oxygen Radical Generation in the Arterial Wall. *Circ. Res.* 87, 26–32. <https://doi.org/10.1161/01.RES.87.1.26>

Gorren, A.C.F., Mayer, B., 2007. Nitric-oxide synthase: A cytochrome P450 family foster child. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.*, P450 1770, 432–445. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2006.08.019>

Grayer, R.J., Kite, G.C., Goldstone, F.J., Bryan, S.E., Paton, A., Putievsky, E., 1996. Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry* 43, 1033–1039. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(96\)00429-3](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(96)00429-3)

Greene, L.E., Lincoln, R., Cosa, G., 2018. Spatio-temporal monitoring of lipid peroxy radicals in live cell studies combining fluorogenic antioxidants and fluorescence microscopy methods. *Free Radic. Biol. Med.*, Current Fluorescence and Chemiluminescence Approaches in Free Radical and Redox Biology 128, 124–136. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.006>

Griffith, J.W., Sokol, C.L., Luster, A.D., 2014. Chemokines and Chemokine Receptors: Positioning Cells for Host Defense and Immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 32, 659–702. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120145>

H

Hansen, M.B., 2003. Neurohumoral control of gastrointestinal motility. *Physiol. Res.* 52, 1–30.

Harman, D., 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 11, 298–300. <https://doi.org/10.1093/geronj/11.3.298>

Headlam, H.A., Davies, M.J., 2004. Markers of protein oxidation: different oxidants give rise to variable yields of bound and released carbonyl products. *Free Radic. Biol. Med.* 36, 1175–1184. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.02.017>

Heghes, S.C., Vostinaru, O., Rus, L.M., Mogosan, C., Iuga, C.A., Filip, L., 2019. Antispasmodic Effect of Essential Oils and Their Constituents: A Review. *Molecules* 24, 1675. <https://doi.org/10.3390/molecules24091675>

Heiss, E., Herhaus, C., Klimo, K., Bartsch, H., Gerhäuser, C., 2001. Nuclear Factor κ B Is a Molecular Target for Sulforaphane-mediated Anti-inflammatory Mechanisms *. *J. Biol. Chem.* 276, 32008–32015. <https://doi.org/10.1074/jbc.M104794200>

Hicks, G., 2007. 6.29 – Irritable Bowel Syndrome. <https://doi.org/10.1016/B0-08-045044-X/00283-2>

Hirst, G.D.S., Ward, S.M., 2003. Interstitial cells: involvement in rhythmicity and neural control of gut smooth muscle. *J. Physiol.* 550, 337–346. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.043299>

Honda, K., Takaoka, A., Taniguchi, T., 2006. Type I Inteferon Gene Induction by the Interferon Regulatory Factor Family of Transcription Factors. *Immunity* 25, 349–360. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.08.009>

Horiguchi, K., Sanders, K.M., Ward, S.M., 2003. Enteric motor neurons form synaptic-like junctions with interstitial cells of Cajal in the canine gastric antrum. *Cell Tissue Res.* 311, 299–313. <https://doi.org/10.1007/s00441-002-0657-1>

Hussain, A.I., Anwar, F., Hussain Sherazi, S.T., Przybylski, R., 2008. Chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.* 108, 986–995. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010>

I

Ibrahim, R.Y.M., Mansour, S.M., Elkady, W.M., 2020. Phytochemical profile and protective effect of *Ocimum basilicum* aqueous extract in doxorubicin/irradiation-induced testicular injury. *J. Pharm. Pharmacol.* 72, 101–110. <https://doi.org/10.1111/jphp.13175>

Ismail, M., 2008. Central Properties and Chemical Composition of *Ocimum basilicum*. Essential Oil. *Pharm. Biol.* 44, 619–626. <https://doi.org/10.1080/13880200600897544>

Irondi, E.A., Agboola, S.O., Oboh, G., Boligon, A.A., 2016. Inhibitory effect of leaves extracts of *Ocimum basilicum* and *Ocimum gratissimum* on two key enzymes involved in obesity and hypertension in vitro. *J. Intercult. Ethnopharmacol.* 5, 396–402. <https://doi.org/10.5455/jjice.20160814112756>

Isotani, E., Zhi, G., Lau, K.S., Huang, J., Mizuno, Y., Persechini, A., Geguchadze, R., Kamm, K.E., Stull, J.T., 2004. Real-time evaluation of myosin light chain kinase activation in smooth

muscle tissues from a transgenic calmodulin-biosensor mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 6279–6284. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308742101>

J

Jadczyk, D., Blaszczyk, A., Rekowska, E., 2006. Effect of covering on the content of macroelements in yield of basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivated for a bunch harvest. undefined.

Jakubzick, C., Gautier, E.L., Gibbings, S.L., Sojka, D.K., Schlitzer, A., Johnson, T.E., Ivanov, S., Duan, Q., Bala, S., Condon, T., van Rooijen, N., Grainger, J.R., Belkaid, Y., Ma'ayan, A., Riches, D.W.H., Yokoyama, W.M., Ginhoux, F., Henson, P.M., Randolph, G.J., 2013. Minimal Differentiation of Classical Monocytes as They Survey Steady-State Tissues and Transport Antigen to Lymph Nodes. *Immunity* 39, 599–610. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.08.007>

Janbaz, K., Hamid, I., Gilani, A., Qadir, M., 2014. Spasmolytic, Bronchodilator and Vasodilator Activities of Aqueous-methanolic Extract of *Ocimum basilicum*. *Int. J. Agric. Biol.* 16, 321–327.

Jayasinghe, C., Gotoh, N., Aoki, T., Wada, S., 2003. Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 51, 4442–4449. <https://doi.org/10.1021/jf034269o>

Jayaweera, D.M.A., 1980. Medicinal Plants (indigenous and Exotic) Used in Ceylon: Flacourtiaceae-Lythraceae. National Science Council of Sri Lanka

Jeyakumar, A., Brickman, T.M., Williamson, M.E., Hirose, K., Krakovitz, P., Whittemore, K., Discolo, C., 2008. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs and Postoperative Bleeding Following Adenotonsillectomy in Pediatric Patients. *Arch. Otolaryngol. Neck Surg.* 134, 24–27. <https://doi.org/10.1001/archoto.2007.11>

Jha, A.K., Huang, S.C.-C., Sergushichev, A., Lampropoulou, V., Ivanova, Y., Loginicheva, E., Chmielewski, K., Stewart, K.M., Ashall, J., Everts, B., Pearce, E.J., Driggers, E.M., Artyomov, M.N., 2015. Network Integration of Parallel Metabolic and Transcriptional Data Reveals

Metabolic Modules that Regulate Macrophage Polarization. *Immunity* 42, 419–430. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.02.005>

Jordan, W.J., Eskdale, J., Boniotto, M., Rodia, M., Kellner, D., Gallagher, G., 2007a. Modulation of the human cytokine response by interferon lambda-1 (IFN- λ 1/IL-29). *Genes Immun.* 8, 13–20. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364348>

Jordan, W.J., Eskdale, J., Srinivas, S., Pekarek, V., Kelner, D., Rodia, M., Gallagher, G., 2007b. Human interferon lambda-1 (IFN- λ 1/IL-29) modulates the Th1/Th2 response. *Genes Immun.* 8, 254–261. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364382>

Jurk, K., Kehrel, B.E., 2005. Platelets: Physiology and Biochemistry. *Semin. Thromb. Hemost.* 31, 381–392. <https://doi.org/10.1055/s-2005-916671>

K

Kadan, S., Saad, B., Sasson, Y., Zaid, H., 2016. In vitro evaluation of anti-diabetic activity and cytotoxicity of chemically analysed *Ocimum basilicum* extracts. *Food Chem.* 196, 1066–1074. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.044>

Kang, B.-S., Chung, E.-Y., Yun, Y.-P., Lee, M.K., Lee, Y.R., Lee, K.-S., Min, K.R., Kim, Y., 2001. Inhibitory Effects of Anti-Inflammatory Drugs on Interleukin-6 Bioactivity. *Biol. Pharm. Bull.* 24, 701–703. <https://doi.org/10.1248/bpb.24.701>

Karim, A., Berrabah, M., Mekhfi, H., Ziyat, A., Legssyer, A., Bouali, A., Haloui, B., Amrani, S., Aziz, M., 2010. Effect of essential oil of *Anthemis mauritiana* Maire & Sennen flowers on intestinal smooth muscle contractility. *J. Smooth Muscle Res.* 46, 65–75. <https://doi.org/10.1540/jsmr.46.65>

Kawahara, T., Quinn, M.T., Lambeth, J.D., 2007. Molecular evolution of the reactive oxygen-generating NADPH oxidase (Nox/Duox) family of enzymes. *BMC Evol. Biol.* 7, 109. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-109>

Kawai, Y., Morinaga, H., Kondo, H., Miyoshi, N., Nakamura, Y., Uchida, K., Osawa, T., 2004. Endogenous Formation of Novel Halogenated 2'-Deoxycytidine: HYPOHALOUS ACID-

MEDIATED DNA MODIFICATION AT THE SITE OF INFLAMMATION *. J. Biol. Chem. 279, 51241–51249. <https://doi.org/10.1074/jbc.M408210200>

Khan, H.M. shoaib, 2011. Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of Sweet Basil-*Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae).

Khare, S., Gokulan, K., Linthicum, D.S., 2000. Vasoactive amine responses in murine cerebrovascular endothelial cells as measured by extracellular acidification rates. J. Neurosci. Res. 60, 356–361. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(20000501\)60:3<356::AID-JNR10>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(20000501)60:3<356::AID-JNR10>3.0.CO;2-H)

Khoza, B.S., Gbashi, S., Steenkamp, P.A., Njobeh, P.B., Madala, N.E., 2016. Identification of hydroxycinnamoyl tartaric acid esters in *Bidens pilosa* by UPLC-tandem mass spectrometry. South Afr. J. Bot. 103, 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.08.018>

Kiferle, C., Lucchesini, M., Mensuali-Sodi, A., Maggini, R., Raffaelli, A., Pardossi, A., 2011. Rosmarinic acid content in basil plants grown in vitro and in hydroponics. Open Life Sci. 6, 946–957. <https://doi.org/10.2478/s11535-011-0057-1>

Kirkman, H.N., Gaetani, G.F., 2007. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. Trends Biochem. Sci. 32, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.11.003>

Korniluk, A., Koper, O., Kemon, H., Dymicka-Piekarska, V., 2017. From inflammation to cancer. Ir. J. Med. Sci. 1971 - 186, 57–62. <https://doi.org/10.1007/s11845-016-1464-0>

Korkmaz, K., Erturk, O., Çol Ayvaz, M., Özcan, M., Akgün, M., Kirli, A., Odabaş Alver, D., 2018. Effect of Cadmium Application on Antimicrobial, Antioxidant and Total Phenolic Content of Basil Genotypes. Indian J. Pharm. Educ. 52, 108–114. <https://doi.org/10.5530/ijper.52.4s.84>

Kotiadis, V.N., Duchon, M.R., Osellame, L.D., 2014. Mitochondrial quality control and communications with the nucleus are important in maintaining mitochondrial function and cell health. Biochim. Biophys. Acta 1840, 1254–1265. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.10.041>

Kreuz, S., Fischle, W., 2016. Oxidative stress signaling to chromatin in health and disease. *Epigenomics* 8, 843–862. <https://doi.org/10.2217/epi-2016-0002>

Kudo, I., Murakami, M., 2002. Phospholipase A2 enzymes. Prostaglandins Other Lipid Mediat., *Molecular Biology of the Arachidonate Cascade* 68–69, 3–58. [https://doi.org/10.1016/S0090-6980\(02\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S0090-6980(02)00020-5)

Kuhn, H., Banthiya, S., van Leyen, K., 2015. Mammalian lipoxygenases and their biological relevance. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids, Oxygenated metabolism of PUFA: analysis and biological relevance* 1851, 308–330. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.10.002>

Kuo, I.Y., Ehrlich, B.E., 2015. Signaling in Muscle Contraction. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7, a006023. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006023>

Kuokkanen, E., Šuštar, V., Mattila, P.K., 2015. Molecular Control of B Cell Activation and Immunological Synapse Formation. *Traffic* 16, 311–326. <https://doi.org/10.1111/tra.12257>

Kwee, E.M., Niemeyer, E.D., 2011. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food Chem.* 128, 1044–1050. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.011>

L

Lapornik, B., Prošek, M., Golc Wondra, A., 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *J. Food Eng.* 71, 214–222. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036>

Lee, G.Y., Han, S.N., 2018. The Role of Vitamin E in Immunity. *Nutrients* 10, 1614. <https://doi.org/10.3390/nu10111614>

Lee, J., Scagel, C.F., 2009. Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chem.* 115, 650–656. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.075>

Ley, K., Laudanna, C., Cybulsky, M.I., Nourshargh, S., 2007. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat. Rev. Immunol.* 7, 678–689. <https://doi.org/10.1038/nri2156>

Li, H., Ge, Y., Luo, Z., Zhou, Y., Zhang, X., Zhang, J., Fu, Q., 2017. Evaluation of the chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of distillate and residue fractions of sweet basil essential oil. *J. Food Sci. Technol.* 54, 1882–1890. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2620-x>

Li, P., Hu, X., Gan, Y., Gao, Y., Liang, W., Chen, J., 2011. Mechanistic Insight into DNA Damage and Repair in Ischemic Stroke: Exploiting the Base Excision Repair Pathway as a Model of Neuroprotection. *Antioxid. Redox Signal.* 14, 1905–1918. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3451>

Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M.R., Wu, H., 2020. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiol. Biochem.* 148, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>

Lim, S.Y., Yuzhalin, A.E., Gordon-Weeks, A.N., Muschel, R.J., 2016. Targeting the CCL2-CCR2 signaling axis in cancer metastasis. *Oncotarget* 7, 28697–28710. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7376>

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn. Rev.* 4, 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>

Lochmiller, R.L., Deerenberg, C., 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos* 88, 87–98. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.880110.x>

Loke, K.E., Laycock, S.K., Mital, S., Wolin, M.S., Bernstein, R., Oz, M., Addonizio, L., Kaley, G., Hintze, T.H., 1999. Nitric Oxide Modulates Mitochondrial Respiration in Failing Human Heart. *Circulation* 100, 1291–1297. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.100.12.1291>

Luna, G., Dolzhenko, A.V., Mancera, R.L., 2019. Inhibitors of Xanthine Oxidase: Scaffold Diversity and Structure-Based Drug Design. *ChemMedChem* 14, 714–743. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201900034>

Lykkesfeldt, J., Michels, A.J., Frei, B., 2014. Vitamin C. *Adv. Nutr.* 5, 16–18. <https://doi.org/10.3945/an.113.005157>

M

Ma, X., 2001. TNF- α and IL-12: a balancing act in macrophage functioning. *Microbes Infect.* 3, 121–129. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01359-9](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01359-9)

M, E., C, B., N, Bennani, N, Benseffaj, S, O., O, A., 2010. [The latest TH17 lymphocyte in the family of T CD4+ lymphocytes]. *Pathol. Biol. (Paris)* 58. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.01.001>

Makri, O., Kintzios, S., 2008. *Ocimum* sp. (Basil): Botany, Cultivation, Pharmaceutical Properties, and Biotechnology. *J. Herbs Spices Med. Plants* 13, 123–150. https://doi.org/10.1300/J044v13n03_10

Maleki, S.J., Crespo, J.F., Cabanillas, B., 2019. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chem.* 299, 125124. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124>

Mahajan, N., Rawal, S., Verma, M., Poddar, M., Alok, S., 2013. A phytopharmacological overview on *Ocimum* species with special emphasis on *Ocimum sanctum*. *Biomed. Prev. Nutr.* 3, 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2012.08.002>

Mahalingaiah, P.K.S., Singh, K.P., 2014. Chronic Oxidative Stress Increases Growth and Tumorigenic Potential of MCF-7 Breast Cancer Cells. *PLOS ONE* 9, e87371. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087371>

Mansouri, A., Gattolliat, C.-H., Asselah, T., 2018. Mitochondrial Dysfunction and Signaling in Chronic Liver Diseases. *Gastroenterology* 155, 629–647. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.06.083>

Marimoutou, M., Fanny, L., Smadja, J., Lefebvre d'Hellencourt, C., Gonthier, M.-P., Robert-Da Silva, C., 2015. Antioxidant polyphenol-rich extracts from the medicinal plants *Antirhea borbonica*, *Doratoxylon apetalum* and *Gouania mauritiana* protect 3T3-L1 preadipocytes against H₂O₂, TNF α and LPS inflammatory mediators by regulating the expression of superoxide dismutase and NF- κ B genes. *J. Inflamm. Lond. Engl.* 12, 10. <https://doi.org/10.1186/s12950-015-0055-6>

Marino, M., Scuderi, F., Provenzano, C., Scheller, J., Rose-John, S., Bartoccioni, E., 2008. IL-6 regulates MCP-1, ICAM-1 and IL-6 expression in human myoblasts. *J. Neuroimmunol.* 196, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2008.02.005>

Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F.K., Margis-Pinheiro, M., 2008. Glutathioneperoxidase family – an evolutionary overview. *FEBS J.* 275, 3959–3970. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06542.x>

Marone, G., Borriello, F., Varricchi, G., Genovese, A., Granata, F., 2014. Basophils: Historical Reflections and Perspectives. *Hist. Allergy* 100, 172–192. <https://doi.org/10.1159/000358734>

Marshall, J.S., 2004. Mast-cell responses to pathogens. *Nat. Rev. Immunol.* 4, 787–799. <https://doi.org/10.1038/nri1460>

Massari, J., Fujiy, D.E., Dutra, F., Vaz, S.M., Costa, A.C.O., Micke, G.A., Tavares, M.F.M., Tokikawa, R., Assunção, N.A., Bechara, E.J.H., 2008. Radical Acetylation of 2'-Deoxyguanosine and l-Histidine Coupled to the Reaction of Diacetyl with Peroxynitrite in Aerated Medium. *Chem. Res. Toxicol.* 21, 879–887. <https://doi.org/10.1021/tx7002799>

McHale, N., Hollywood, M., Sergeant, G., Thornbury, K., 2006. Origin of spontaneous rhythmicity in smooth muscle. *J. Physiol.* 570, 23–28. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.098376>

Meera, R., Devi, P., Kameswari, B., Madhumitha, B., Merlin, N.J., 2009. Antioxidant and hepatoprotective activities of *Ocimum basilicum* Linn.

Trigonella foenum-graecum Linn. against H₂O₂ and CCl₄ induced hepatotoxicity in goat liver. IJEB Vol4707 July 2009.

Mehrabi Nasaba, E., Athari, S.M., Motlagh, B., Athari, S.S., 2020. Effects of oral administration of *Ocimum basilicum* on goblet cell hyperplasia and upstream cytokine gene expression in allergic asthma. Rev. Fr. Allergol. 60, 64–68. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2019.02.226>

Merle, N.S., Church, S.E., Fremeaux-Bacchi, V., Roumenina, L.T., 2015a. Complement System Part I – Molecular Mechanisms of Activation and Regulation. Front. Immunol. 6.

Merle, N.S., Noe, R., Halbwachs-Mecarelli, L., Fremeaux-Bacchi, V., Roumenina, L.T., 2015b. Complement System Part II: Role in Immunity. Front. Immunol. 6.

Miao, L., St. Clair, D.K., 2009. Regulation of superoxide dismutase genes: Implications in disease. Free Radic. Biol. Med. 47, 344–356. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.018>

Michiels, C., 2003. Endothelial cell functions. J. Cell. Physiol. 196, 430–443. <https://doi.org/10.1002/jcp.10333>

Miller, M.C., Mayo, K.H., 2017. Chemokines from a Structural Perspective. Int. J. Mol. Sci. 18, 2088. <https://doi.org/10.3390/ijms18102088>

Mohammad-Zadeh, L.F., Moses, L., Gwaltney-Brant, S.M., 2008. Serotonin: a review. J. Vet. Pharmacol. Ther. 31, 187–199. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2008.00944.x>

Mohareb, R.M., Elmegeed, G.A., Baiuomy, A.R., Eskander, E.F., William, M.G., 2011. Evaluation of Anti-inflammatory, Anti-nociceptive, and Anti-ulcerogenic Activities of Novel Synthesized Thiazolyl and Pyrrolyl Steroids. Arch. Pharm. (Weinheim) 344, 595–604. <https://doi.org/10.1002/ardp.201000366>

Montgomery, L.E.A., Tansey, E.A., Johnson, C.D., Roe, S.M., Quinn, J.G., 2016. Autonomic modification of intestinal smooth muscle contractility. *Adv. Physiol. Educ.* 40, 104–109. <https://doi.org/10.1152/advan.00038.2015>

Morel, F., 2007. [Molecular aspects of chronic granulomatous disease. “The NADPH oxidase complex”]. *Bull. Acad. Natl. Med.* 191, 377–90; discussion 390-2.

Morel, S., Arnould, S., Vitou, M., Boudard, F., Guzman, C., Poucheret, P., Fons, F., Rapior, S., 2018. Antiproliferative and Antioxidant Activities of Wild Boletales Mushrooms from France. *Int. J. Med. Mushrooms* 20. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2018025329>

Moreno, J.J., 1993. Time-course of phospholipase A2, eicosanoid release and cellular accumulation in rat immunological air pouch inflammation. *Int. J. Immunopharmacol.* 15, 597–603. [https://doi.org/10.1016/0192-0561\(93\)90077-C](https://doi.org/10.1016/0192-0561(93)90077-C)

Mótyán, J.A., Tóth, F., Tózsér, J., 2013. Research Applications of Proteolytic Enzymes in Molecular Biology. *Biomolecules* 3, 923–942. <https://doi.org/10.3390/biom3040923>

Mousavi, M., Zaiter, A., Becker, L., Modarressi, A., Baudelaire, E., Dicko, A., 2020a. Optimisation of phytochemical characteristics and antioxidative properties of *Foeniculum vulgare* Mill. seeds and *Ocimum basilicum* L. leaves superfine powders using new parting process. *Phytochem. Anal.* 31, 154–163. <https://doi.org/10.1002/pca.2875>

Mousavi, M., Zaiter, A., Becker, L., Modarressi, A., Baudelaire, E., Dicko, A., 2020b. Optimisation of phytochemical characteristics and antioxidative properties of *Foeniculum vulgare* Mill. seeds and *Ocimum basilicum* L. leaves superfine powders using new parting process. *Phytochem. Anal.* 31, 154–163. <https://doi.org/10.1002/pca.2875>

Muralidharan, A., Dhananjayan, R., 2004. Cardiac stimulant activity of *Ocimum basilicum* Linn. extracts. *Indian J. Pharmacol.* 36, 163–166.

Murphy, E.C., Friedman, A.J., 2019. Hydrogen peroxide and cutaneous biology: Translational applications, benefits, and risks. *J. Am. Acad. Dermatol.* 81, 1379–1386. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.05.030>

N

Nadeem, M., Abbasi, B.H., Younas, M., Ahmad, W., Zahir, A., Hano, C., 2019. LED-enhanced biosynthesis of biologically active ingredients in callus cultures of *Ocimum basilicum*. *J. Photochem. Photobiol. B* 190, 172–178. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.09.011>

Nadkarni KM. *The Indian Plants and Drugs*. New Delhi: Shrishti Book Distributors; 2005. 263

Nakanishi, M., Rosenberg, D.W., 2013. Multifaceted roles of PGE2 in inflammation and cancer. *Semin. Immunopathol.* 35, 123–137. <https://doi.org/10.1007/s00281-012-0342-8>

Nathan, C., Ding, A., 2010. Nonresolving Inflammation. *Cell* 140, 871–882. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.029>

Nguyen, M.V.C., Lardy, B., Paclet, M.-H., Rousset, F., Berthier, S., Baillet, A., Grange, L., Gaudin, P., Morel, F., 2015. Les NADPH oxydases, Nox - Une nouvelle famille d'isoenzymes. *Médecine/sciences* 31, 43–52. <https://doi.org/10.1051/medsci/20153101012>

Nigam, S., Schewe, T., 2000. Phospholipase A2s and lipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1488, 167–181. [https://doi.org/10.1016/S1388-1981\(00\)00119-0](https://doi.org/10.1016/S1388-1981(00)00119-0)

Nitz, G.M., Schnitzler, W.H., 2004. effect of par and uv-b radiation on the quality and quantity of the essential oil in sweet basil (*ocimum basilicum* l.). *Acta Hortic.* 375–381. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.659.50>

O

O'Connor, T., Heikenwalder, M., 2021. CCL2 in the Tumor Microenvironment, in: Birbrair, A. (Ed.), *Tumor Microenvironment: The Role of Chemokines – Part B*. Springer International Publishing, Cham, pp. 1–14. https://doi.org/10.1007/978-3-030-62658-7_1

Ohama, T., Hori, M., Ozaki, H., 2007. Mechanism of abnormal intestinal motility in inflammatory bowel disease: how smooth muscle contraction is reduced? *J. Smooth Muscle Res.* 43, 43–54. <https://doi.org/10.1540/jsmr.43.43>

O'Mahony, L., Akdis, M., Akdis, C.A., 2011. Regulation of the immune response and inflammation by histamine and histamine receptors. *J. Allergy Clin. Immunol.* 128, 1153–1162. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.06.051>

O'Neill, L.A.J., Pearce, E.J., 2015. Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function. *J. Exp. Med.* 213, 15–23. <https://doi.org/10.1084/jem.20151570>

Orliaguet, G., Gall, O., Benabess-Lambert, F., 2013. Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Prat. En Anesth. Réanimation* 17, 228–237. <https://doi.org/10.1016/j.pratan.2013.08.002>

Osińska, I., Popko, K., Demkow, U., 2014. Perforin: an important player in immune response. *Cent. Eur. J. Immunol.* 39, 109–115. <https://doi.org/10.5114/ceji.2014.42135>

P

Pacher, P., Beckman, J.S., Liaudet, L., 2007. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. *Physiol. Rev.* 87, 315–424. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2006>

Pacher, P., Nivorozhkin, A., Szabó, C., 2006. Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors: Renaissance Half a Century after the Discovery of Allopurinol. *Pharmacol. Rev.* 58, 87–114. <https://doi.org/10.1124/pr.58.1.6>

Padash, A., Ghanbari, A., Asgharipour, M., Javaheri, M., 2019. Changes in antioxidantenzymes activity and physiological traits by exogenous salicylic acid in basil (*Ocimumbasilicum*) under Pb stress. *undefined*.

Park, K.-I., Kang, S.-R., Park, H.-S., Lee, D.H., Nagappan, A., Kim, J.A., Shin, S.C., Kim, E.H., Lee, W.S., Chung, H.-J., An, S.J., Kim, G.S., 2012. Regulation of Proinflammatory Mediators via NF- κ B and p38 MAPK-Dependent Mechanisms in RAW 264.7 Macrophages by

Polyphenol Components Isolated from Korea *Lonicera japonica* THUNB. Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2012, e828521. <https://doi.org/10.1155/2012/828521>

Pate, M., Damarla, V., Chi, D.S., Negi, S., Krishnaswamy, G., 2010. Chapter 5 - Endothelial Cell Biology: Role in the Inflammatory Response, in: Makowski, G.S. (Ed.), *Advances in Clinical Chemistry*. Elsevier, pp. 109–130. [https://doi.org/10.1016/S0065-2423\(10\)52004-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2423(10)52004-3)

Patel, M., Mangukia, N., Jha, N., Gadhavi, H., Shah, K., Patel, S., Mankad, A., Pandya, H., Rawal, R., 2019. Computational identification of miRNA and their cross-kingdom targets from expressed sequence tags of *Ocimum basilicum*. *Mol. Biol. Rep.* 46, 2979–2995. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04759-x>

Paton, A., Harley, R., Harley, M., 1999. OCIMUM: AN OVERVIEW OF CLASSIFICATION AND RELATIONSHIPS.

Pestka, S., Krause, C.D., Walter, M.R., 2004. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol. Rev.* 202, 8–32. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00204.x>

Pérez-Jiménez, J., Fezeu, L., Touvier, M., Arnault, N., Manach, C., Hercberg, S., Galan, P., Scalbert, A., 2011. Dietary intake of 337 polyphenols in French adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 93, 1220–1228. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.007096>

Pinchuk, I., Lichtenberg, D., 2014. Analysis of the kinetics of lipid peroxidation in terms of characteristic time-points. *Chem. Phys. Lipids* 178, 63–76. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2013.12.001>

Platanias, L.C., 2005. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat. Rev. Immunol.* 5, 375–386. <https://doi.org/10.1038/nri1604>

Pober, J.S., Sessa, W.C., 2007. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 7, 803–815. <https://doi.org/10.1038/nri2171>

Prasad, A.S., Bao, B., Beck, F.W.J., Kucuk, O., Sarkar, F.H., 2004. Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radic. Biol. Med.* 37, 1182–1190. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.07.007>

Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K., 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

R

Radi, R., Peluffo, G., Alvarez, M.N., Naviliat, M., Cayota, A., 2001. Unraveling peroxynitrite formation in biological systems. *Free Radic. Biol. Med.* 30, 463–488. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00373-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00373-7)

Raina, P., M., D., C.v., C., Agarwal, A., Wagh, N., Kaul-Ghanekar, R., 2016. Comparative analysis of anti-inflammatory activity of aqueous and methanolic extracts of *Ocimum basilicum* (basil) in RAW264.7, SW1353 and human primary chondrocytes in respect of the management of osteoarthritis. *J. Herb. Med.* 6, 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2016.01.002>

Ramachandran, A., Levonen, A.-L., Brookes, P.S., Ceaser, E., Shiva, S., Barone, M.C., Darley-Usmar, V., 2002. Mitochondria, nitric oxide, and cardiovascular dysfunction. *Free Radic. Biol. Med.* 33, 1465–1474. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01142-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01142-5)

Raman, D., Sobolik-Delmaire, T., Richmond, A., 2011. Chemokines in health and disease. *Exp. Cell Res., Special Issue: Chemokines* 317, 575–589. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2011.01.005>

Rameshrad, M., Salehian, R., Fathiazad, F., Hamedeyazdan, S., Garjani, M., Maleki-Dizaji, N., Vosooghi, R., 2014. The effects of *Ocimum basilicum* ethanol extract on carrageenan induced paw inflammation in rats. <https://doi.org/10.5681/PS.2015.004>

Ravipati, A.S., Zhang, L., Koyyalamudi, S.R., Jeong, S.C., Reddy, N., Bartlett, J., Smith, P.T., Shanmugam, K., Münch, G., Wu, M.J., Satyanarayanan, M., Vysetti, B., 2012. Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected Chinese medicinal plants and their relation with

antioxidant content. *BMC Complement. Altern. Med.* 12, 173. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-173>

Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A., FlaminiGuido, null, Kiliñarslan, Ö., Mammadov, R., Bardaweel, S.K., 2019. Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *BMC Complement. Altern. Med.* 19, 146. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2556-y>

Robaszkiewicz, A., Balcerczyk, A., Bartosz, G., 2007. Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells. *Cell Biol. Int.* 31, 1245–1250. <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2007.04.009>

Robbins, R.A., Grisham, M.B., 1997. Nitric oxide. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 29, 857–860. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(96\)00167-7](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(96)00167-7)

Roe, K., 2021. An inflammation classification system using cytokine parameters. *Scand. J. Immunol.* 93, e12970. <https://doi.org/10.1111/sji.12970>

Roche, N., Devillier, P., Aguilaniu, B., Escamilla, R., Wallaert, B., Burgel, P.-R., Berger, P., Brillet, P.-Y., Chambellan, A., Chanez, P., Chaouat, A., Louis, R., Mal, H., Marthan, R., Muir, J.-F., Pérez, T., Similowski, T., Aubier, M., 2011. BPCO et inflammation : mise au point d'un groupe d'experts. Comment traiter l'inflammation ? *Rev. Mal. Respir.* 28, 427–442. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2010.08.017>

Rothenberg, M.E., 1998. Eosinophilia. *N. Engl. J. Med.* 338, 1592–1600. <https://doi.org/10.1056/NEJM199805283382206>

Rouzer, C.A., Marnett, L.J., 2020. Structural and Chemical Biology of the Interaction of Cyclooxygenase with Substrates and Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Chem. Rev.* 120, 7592–7641. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00215>

Rutz, J.K., Borges, C.D., Zambiasi, R.C., da Rosa, C.G., da Silva, M.M., 2016. Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. *Food Chem.* 202, 324–333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.140>

S

S., B., P., P., A., S., M. F., C., 2012. Clinical Pharmacology of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Review. *Anti-Inflamm. Anti-Allergy Agents Med. Chem.* 11, 52–64.

Sanders, K.M., 2008. Regulation of smooth muscle excitation and contraction. *Neurogastroenterol. Motil.* 20, 39–53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2008.01108.x>

Sanders, K.M., Koh, S.D., Ro, S., Ward, S.M., 2012. Regulation of gastrointestinal motility—insights from smooth muscle biology. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 9, 633–645. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.168>

Sarkela, T.M., Berthiaume, J., Elfering, S., Gybina, A.A., Giulivi, C., 2001. The Modulation of Oxygen Radical Production by Nitric Oxide in Mitochondria *. *J. Biol. Chem.* 276, 6945–6949. <https://doi.org/10.1074/jbc.M007625200>

Sarrouilhe, D., Clarhaut, J., Defamie, N., Mesnil, M., 2015. Serotonin and Cancer: What Is the Link? *Curr. Mol. Med.* 15, 62–77.

Sarrouilhe, D., Mesnil, M., 2019. Serotonin and human cancer: A critical view. *Biochimie*, 70 years of Serotonin 161, 46–50. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.06.016>

Sartore, S., Chiavegato, A., Faggini, E., Franch, R., Puato, M., Ausoni, S., Pauletto, P., 2001. Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant. *Circ. Res.* 89, 1111–1121. <https://doi.org/10.1161/hh2401.100844>

Schaper, F., Rose-John, S., 2015. Interleukin-6: Biology, signaling and strategies of blockade. *Cytokine Growth Factor Rev.*, Special Issue: IL-6 and IL-12 Type Cytokines – A multifaceted Family 26, 475–487. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2015.07.004>

Schapira, A.H., 2008. Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 7, 97–109. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70327-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70327-7)

Schweitzer, C., Schmidt, R., 2003. Physical Mechanisms of Generation and Deactivation of Singlet Oxygen. *Chem. Rev.* 103, 1685–1758. <https://doi.org/10.1021/cr010371d>

Selvakkumar, C., Gayathri, B., Vinaykumar, K.S., Lakshmi, B.S., Balakrishnan, A., 2007. Potential Anti-inflammatory Properties of Crude Alcoholic *Extract* of *Ocimum basilicum* L. in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *J. Health Sci.* 53, 500–505. <https://doi.org/10.1248/jhs.53.500>

Senthooraja, R., Subaharan, K., Manjunath, S., Pragadheesh, V.S., Bakthavatsalam, N., Mohan, M.G., Senthil-Nathan, S., Basavarajappa, S., 2021. Electrophysiological, behavioural and biochemical effect of *Ocimum basilicum* oil and its constituent's methyl chavicol and linalool on *Musca domestica* L. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28, 50565–50578. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14282-x>

Serafini, M., Peluso, I., Raguzzini, A., 2010. Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proc. Nutr. Soc.* 69, 273–278. <https://doi.org/10.1017/S002966511000162X>

Sestili, P., Ismail, T., Calcabrini, C., Guescini, M., Catanzaro, E., Turrini, E., Layla, A., Akhtar, S., Fimognari, C., 2018. The potential effects of *Ocimum basilicum* on health: a review of pharmacological and toxicological studies. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 14, 679–692. <https://doi.org/10.1080/17425255.2018.1484450>

Shapouri-Moghaddam, A., Mohammadian, S., Vazini, H., Taghadosi, M., Esmaeili, S.-A., Mardani, F., Seifi, B., Mohammadi, A., Afshari, J.T., Sahebkar, A., 2018. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J. Cell. Physiol.* 233, 6425–6440. <https://doi.org/10.1002/jcp.26429>

Sikora, E., Scapagnini, G., Barbagallo, M., 2010. Curcumin, inflammation, ageing and age-related diseases. *Immun. Ageing* 7, 1. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-7-1>

Simpson, B.B., Conner-Ogorzaly, M., 1986. *Economic Botany: Plants in Our World*. McGraw-Hill.

Siwak, J., Lewinska, A., Wnuk, M., Bartosz, G., 2013. Protection of flavonoids against hypochlorite-induced protein modifications. *Food Chem.* 141, 1227–1241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.018>

S, N.N., J, A.A., I, O.A., 2008. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *Afr. J. Biotechnol.* 7, 1797–1806. <https://doi.org/10.5897/AJB07.613>

Spencer, N.J., Hibberd, T.J., Travis, L., Wiklendt, L., Costa, M., Hu, H., Brookes, S.J., Wattchow, D.A., Dinning, P.G., Keating, D.J., Sorensen, J., 2018. Identification of a Rhythmic Firing Pattern in the Enteric Nervous System That Generates Rhythmic Electrical Activity in Smooth Muscle. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 38, 5507–5522. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3489-17.2018>

Stagos, D., Portesis, N., Spanou, C., Mossialos, D., Aligiannis, N., Chaita, E., Panagoulis, C., Reri, E., Skaltsounis, L., Tsatsakis, A.M., Kouretas, D., 2012. Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. *Food Chem. Toxicol.* 50, 4115–4124. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.033>

Steinbeck, M.J., Khan, A.U., Karnovsky, M.J., 1993. Extracellular production of singlet oxygen by stimulated macrophages quantified using 9,10-diphenylanthracene and perylene in a polystyrene film. *J. Biol. Chem.* 268, 15649–15654.

Stevenson, C.S., Koch, L.G., Britton, S.L., 2006. Aerobic capacity, oxidant stress, and chronic obstructive pulmonary disease--a new take on an old hypothesis. *Pharmacol. Ther.* 110, 71–82. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.09.006>

Subramanian, K., Sankaramourthy, D., Gunasekaran, M., 2018. Chapter 18 - Toxicity Studies Related to Medicinal Plants, in: Mandal, S.C., Mandal, V., Konishi, T. (Eds.), *Natural Products and Drug Discovery*. Elsevier, pp. 491–505. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102081-4.00018-6>

Sueishi, Y., Hori, M., Kita, M., Kotake, Y., 2011. Nitric oxide (NO) scavenging capacity of natural antioxidants. *Food Chem.* 129, 866–870. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.036>

Sun, M.-S., Jin, H., Sun, X., Huang, S., Zhang, F.-L., Guo, Z.-N., Yang, Y., 2018. Free Radical Damage in Ischemia-Reperfusion Injury: An Obstacle in Acute Ischemic Stroke after Revascularization Therapy. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018, e3804979. <https://doi.org/10.1155/2018/3804979>

Szabó, C., Ischiropoulos, H., Radi, R., 2007. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.* 6, 662–680. <https://doi.org/10.1038/nrd2222>

T

Tabrez, S., Jabir, N.R., Khan, M.I., Khan, M.S., Shakil, S., Siddiqui, A.N., Zaidi, S.K., Ahmed, B.A., Kamal, M.A., 2020. Association of autoimmunity and cancer: An emphasis on proteolytic enzymes. *Semin. Cancer Biol., Autoimmune disease and comorbidity* 64, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.05.006>

Takeuchi, H., Takahashi-Muto, C., Nagase, M., Kassai, M., Tanaka-Yachi, R., Kiyose, C., 2020. Anti-inflammatory Effects of Extracts of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) on a Co-culture of 3T3-L1 Adipocytes and RAW264.7 Macrophages. *J. Oleo Sci.* 69, 487–493. <https://doi.org/10.5650/jos.ess19321>

Takeuchi, O., Akira, S., 2010. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell* 140, 805–820. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022>

Takeuchi, O., Akira, S., 2009. Innate immunity to virus infection. *Immunol. Rev.* 227, 75–86. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00737.x>

Takimoto, E., Kass, D.A., 2007. Role of oxidative stress in cardiac hypertrophy and remodeling. *Hypertension* 49, 241–248. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000254415.31362.a7>

Tan, H.T.W., 2005. *Herbs & Spices of Thailand*. Times Editions - Marshall Cavendish.

Vinolo, M.A.R., Rodrigues, H.G., Nachbar, R.T., Curi, R., 2011. Regulation of Inflammation by Short Chain Fatty Acids. *Nutrients* 3, 858–876. <https://doi.org/10.3390/nu3100858>

Taulavuori, K., Hyöky, V., Oksanen, J., Taulavuori, E., Julkunen-Tiitto, R., 2016. Species-specific differences in synthesis of flavonoids and phenolic acids under increasing periods of enhanced blue light. <https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2015.04.002>

Telci, I., Bayram, E., Yilmaz, G., Avci, B., 2006. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). *Biochem. Syst. Ecol.*

Tiwari, A., 2001. Imbalance in antioxidant defense and human disease: Multiple approach of natural antioxidant therapy. *Curr. Sci.* 81, 1179–1187.

Tognolini, M., Barocelli, E., Ballabeni, V., Bruni, R., Bianchi, A., Chiavarini, M., Impicciatore, M., 2006. Comparative screening of plant essential oils: Phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. *Life Sci.* 78, 1419–1432. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.07.020>

Torres, R.G., Casanova, L., Carvalho, J., Marcondes, M.C., Costa, S.S., Sola-Penna, M., Zancan, P., 2018. *Ocimum basilicum* but not *Ocimum gratissimum* present cytotoxic effects on human breast cancer cell line MCF-7, inducing apoptosis and triggering mTOR/Akt/p70S6K pathway. *J. Bioenerg. Biomembr.* 50, 93–105. <https://doi.org/10.1007/s10863-018-9750-3>

Touyz, R.M., Briones, A.M., 2011. Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension. *Hypertens. Res.* 34, 5–14. <https://doi.org/10.1038/hr.2010.201>

Tracey, K.J., Cerami, A., 1993. Tumor Necrosis Factor, Other Cytokines and Disease. *Annu. Rev. Cell Biol.* 9, 317–343. <https://doi.org/10.1146/annurev.cb.09.110193.001533>

Tsai, P.-J., Tsai, T.-H., Yu, C.-H., Ho, S.-C., 2007. Comparison of NO-scavenging and NO-suppressing activities of different herbal teas with those of green tea. *Food Chem.* 103, 181–187. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.013>

U

Uchida, Yasumi, Maezawa, Yuko, Maezawa, Yoshiro, Uchida, Yasuto, Nakamura, F., 2011. Role of Calcium-Activated Potassium Channels in the Genesis of 3,4-Diaminopyridine-Induced Periodic Contractions in Isolated Canine Coronary Artery Smooth Muscles. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 338, 974–983. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.180687>

V

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 39, 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)

Vieira, R.F., Simon, J.E., 2000. Chemical Characterization of basil (*Ocimum Spp.*) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. *Econ. Bot.* 54, 207–216. <https://doi.org/10.1007/BF02907824>

Vignais, P.V., 2002. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 59, 1428–1459. <https://doi.org/10.1007/s00018-002-8520-9>

Villadangos, J.A., Young, L., 2008. Antigen-Presentation Properties of Plasmacytoid Dendritic Cells. *Immunity* 29, 352–361. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.09.002>

Vinolo, M.A.R., Rodrigues, H.G., Nachbar, R.T., Curi, R., 2011. Regulation of Inflammation by Short Chain Fatty Acids. *Nutrients* 3, 858–876. <https://doi.org/10.3390/nu3100858>

Vitellius, G., Trabado, S., Bouligand, J., Delemer, B., Lombès, M., 2018. Pathophysiology of Glucocorticoid Signaling. *Ann. Endocrinol., Klotz Communications 2018: Cortisol and all its disorders Klotz Communications 2018: Le Cortisol et tous ses dérèglements* 79, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2018.03.001>

Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B., Mot, A.C., Silaghi-Dumitrescu, R., Tilea, I., 2014a. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities and Phenolic Profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules* 19, 5490–5507. <https://doi.org/10.3390/molecules19055490>

Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B., Mot, A.C., Silaghi-Dumitrescu, R., Tilea, I., 2014b. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities and Phenolic Profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules* 19, 5490–5507. <https://doi.org/10.3390/molecules19055490>

W

W. Waring, S., J. Webb, D., R. J. Maxwell, S., 2001. Systemic Uric Acid Administration Increases Serum Antioxidant Capacity in Healthy Volunteers. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 38, 365–371.

Wang, D., DuBois, R.N., 2015. Immunosuppression associated with chronic inflammation in the tumor microenvironment. *Carcinogenesis* 36, 1085–1093. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgv123>

Wang, D., DuBois, R.N., 2006. Prostaglandins and Cancer. *Gut* 55, 115–122. <https://doi.org/10.1136/gut.2004.047100>

Weiss, U., 2008. Inflammation. *Nature* 454, 427–427. <https://doi.org/10.1038/454427a>

Whittle, B.J.R., 2000. COX-1 and COX-2 products in the gut: therapeutic impact of COX-2 inhibitors. *Gut* 47, 320–325. <https://doi.org/10.1136/gut.47.3.320>

Winterbourn, C.C., 2002. Biological reactivity and biomarkers of the neutrophil oxidant, hypochlorous acid. *Toxicology* 181–182, 223–227. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00286-X](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00286-X)

Winterbourn, C.C., Kettle, A.J., 2000. Biomarkers of myeloperoxidase-derived hypochlorous acid. *Free Radic. Biol. Med.* 29, 403–409. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00204-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00204-5)

Wooff, Y., Man, S.M., Aggio-Bruce, R., Natoli, R., Fernando, N., 2019. IL-1 Family Members Mediate Cell Death, Inflammation and Angiogenesis in Retinal Degenerative Diseases. *Front. Immunol.* 10, 1618. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01618>

X

Xiao, L., Harrison, D.G., 2020. Inflammation in Hypertension. *Can. J. Cardiol.* 36, 635–647. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.01.013>

Y

Yao, C., Narumiya, S., 2019. Prostaglandin-cytokine crosstalk in chronic inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 176, 337–354. <https://doi.org/10.1111/bph.14530>

Yin, H., Xu, L., Porter, N.A., 2011. Free Radical Lipid Peroxidation: Mechanisms and Analysis. *Chem. Rev.* 111, 5944–5972. <https://doi.org/10.1021/cr200084z>

Youn, B.-S., Mantel, C., Broxmeyer¹, H.E., 2000. Chemokines, chemokine receptors and hematopoiesis. *Immunol. Rev.* 177, 150–174. <https://doi.org/10.1034/j.1600-065X.2000.17701.x>

Young, I.S., Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.* 54, 176–186. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.3.176>

Yu, Y., Blokhuis, B.R., Garssen, J., Redegeld, F.A., 2016. Non-IgE mediated mast cell activation. *Eur. J. Pharmacol., Pharmacological modulation of Mast cells and Basophils* 778, 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.07.017>

Z

Zgórka, G., Głowniak, K., 2001. Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 26, 79–87. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(01\)00354-5](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(01)00354-5)

Zhu, C.P., Jiang, F., Wang, R.Q., Guo, X.Z., Hou, X.H., Xu, H., Zeng, Y., Du, Y.Q., Li, Z.S., 2017. Comparison of efficacy and safety of hyoscine butylbromide versus anisodamine for acute gastric or intestinal spasm-like pain: A randomized, double-blinded, multicenter Phase III trial. *J. Dig. Dis.* 18, 453–460. <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12504>

Zinkernagel, R.M., Doherty, P.C., 1974. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature* 248, 701–702. <https://doi.org/10.1038/248701a0>

Résumé : Le basilic *Ocimum basilicum* L est une plante herbacée, aromatique et alimentaire, il est utilisé sous forme fraîche ou bien transformé 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. L'objectif de ce travail est basé sur la caractérisation différentielles entre les tiges et les feuilles d'*Ocimum basilicum* sur le profil phytochimique et l'évaluation de leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antispasmodiques. Les extraits de basilic ont présenté des profils phytochimique différents, et l'évaluation de leurs effets antioxydants par le test DPPH et ORAC ont montré que les extraits éthanoliques ont une activité plus importante en comparaison avec les extraits aqueux. L'étude des effets anti-inflammatoires des extraits éthanoliques de tiges et de feuilles de basilic *in vitro* dans un modèle cellulaire de macrophages J774 stimulés par le LPS/IFN γ a montré que les deux extraits ont un effet inhibiteur sur la production des médiateurs inflammatoires (oxide nitrique, interlukine-6, prostaglandine E2, monocyte chemoattractante protein-1). Par contre ces extraits ont augmenté la production de la cytokine pro-inflammatoire TNF α (Facteur de nécrose tumorale alpha). Par la suite les extraits aqueux ont montré un effet relaxant sur le muscle lisse intestinal de rat. Les résultats de cette étude ont indiqué que les deux parties de basilic feuilles et tiges ont des effets biologiques intéressants qui peuvent être valorisés sur le plan nutrition- santé.

Mots clés : *Ocimum basilicum* L, tiges, feuilles, extraits éthanoliques, extraits aqueux, activité antioxydante, anti-inflammatoire, antispasmodique, nutrition, santé.

Abstract: Basil *Ocimum basilicum* L is an herbaceous, aromatic, and food crop, which is used fresh or processed in some culinary preparations, thus in traditional medicine. The different parts of this plant present very important biological properties for human health due to their richness in bioactive compounds. The objective of this work is based on the differential characterization of the phytochemical profile of the stems and leaves of *Ocimum basilicum* and the evaluation of its antioxidant, anti-inflammatory, and antispasmodic properties. The basil extracts showed different phytochemical profiles, and the evaluation of these antioxidant effects by DPPH and ORAC assay showed that the ethanolic extracts had a higher activity compared to the aqueous extracts. The study of the anti-inflammatory effects of ethanolic extracts of basil stems and leaves *in vitro* in a macrophage J774 cell model stimulated by LPS/IFN γ showed that both extracts had an inhibitory effect on the production of inflammatory mediators (nitric oxide, interlukin-6, prostaglandin E2, Monocyte chemoattractant protein-1), but increased the production of the pro-inflammatory cytokine TNF α (Tumour necrosis factor-alpha). Subsequently, the aqueous extracts showed a relaxing effect on rat intestinal smooth muscle. The results of this study indicated that both parts of basil leaves and stems have interesting biological effects that can be valorized in terms of nutrition and health.

Key words: *Ocimum basilicum* L, stems, leaves, ethanolic extract, aqueous extract, antioxidant, anti-inflammatory, antispasmodic activities, nutrition, health.