

## Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*

### [ Polyphenols content and antioxidant activity of two species from Moroccan High Atlas: *Rosmarinus officinalis* and *Thymus satureioides* ]

**Kamal FADILI<sup>1</sup>, Smail AMALICH<sup>1</sup>, Soro K. N'DEDIANHOUA<sup>1</sup>, Mohammed Bouachrine<sup>1-2</sup>, Malika MAHJoubi<sup>1</sup>, Fatima EL HILALI<sup>1</sup>, and Touria ZAIR<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departement de Chimie,  
Equipe de recherche de chimie des molécules bioactives et de l'environnement,  
Faculté de sciences, Université Moulay Ismail, B.P. 11201, Zitoune, Meknès, Morocco

<sup>2</sup>Ecole supérieure de Technologie,  
Université Moulay Ismail, Route d'Agouray, Km 5, BP: 3103, Toulal, Meknès, Morocco

---

Copyright © 2015 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** Aromatic and medicinal plants are a source of biologically active secondary metabolites such as polyphenols. These substances have many biological properties, such as antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant ones. The aim of our work is to valorize two aromatic and medicinal plants growing wild in Moroccan Eastern High Atlas through quantifying phenolic compounds of both species and evaluation of extracts' antioxidant activity. These species are *Rosmarinus officinalis* and *Thymus satureioides*

Both plants were subjected to a phytochemical screening to highlight their secondary metabolites' qualitative composition. This analysis shows the presence of flavonoids, tannins, saponins, sterols and triterpenes, free anthraquinones and catechols. But alkaloids, carotenoids and reducing compounds were not observed.

Total polyphenols extraction was made by maceration in methanol 80%. Yields were approximately 13.06% and 11.66% for *Rosmarinus officinalis* and *Thymus satureioides*. Then, methanol's crude extract was fractionated using successively three organic solvents of various polarities: chloroform, ethyl acetate and n-butanol.

Polyphenol dosage with Folin Ciocalteu's reagent showed that ethyl acetate fractions of both species *Rosmarinus officinalis* and *Thymus satureioides*, are more rich in phenolics than the other fractions.

Antioxidant activities of ethyl acetate extracts by DPPH test were quantified by spectrophotometry and 50% inhibitory concentrations' values (IC50) were determined graphically. They were equal to 103,86µg / ml and 109,98µg / ml for *Rosmarinus officinalis* and *Thymus satureioides* respectively. The concentration 52,5µg / ml was obtained for ascorbic acid used as a reference.

In this present study, fractionation method with solvents used in polyphenols' extraction indicates phenolics richness of both species. These substances have an important antioxidant power.

**KEYWORDS:** Antioxidant activity, polyphenols, extracts, ethyl acetate.

**RESUME:** Les plantes aromatiques et médicinales représentent une source de métabolites secondaires biologiquement actifs tels que les polyphénols. Ces substances présentent plusieurs propriétés biologiques, telles que les activités antimicrobienne, anti-inflammatoire et antioxydante. L'objectif de notre travail est la valorisation de deux plantes aromatiques et médicinales poussant à l'état spontané dans le Haut Atlas Oriental du Maroc par la quantification des

teneurs en composés phénoliques de ces deux espèces et l'évaluation de l'activité antioxydante de leurs extraits, il s'agit de *Rosmarinus Officinalis*, et *Thymus Satureioides*.

Les deux plantes ont été soumises à un criblage phytochimique pour mettre en évidence leur composition qualitative en métabolites secondaires. Cette analyse montre la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponosides, des Stérols et des triterpènes, des anthraquinones libres et des catéchols. Mais il a été observé l'absence des alcaloïdes, des Caroténoïdes et des composés réducteurs.

L'extraction des polyphénols totaux a été faite par macération en présence du méthanol à 80%. Le rendement est de l'ordre de 13,06 % pour *Rosmarinus Officinalis* et 11,66% pour *Thymus Satureioides*. Ensuite, le fractionnement de l'extrait méthanolique brut a été mené en utilisant successivement trois solvants organiques de polarités différentes : le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol.

Le dosage des polyphénols par la méthode de Folin Ciocalteu a montré que les fractions d'acétate d'éthyle de deux espèces *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*, sont plus riches en composés phénoliques que les autres fractions.

Les activités antioxydantes des extraits d'acétate d'éthyle par le test de DPPH ont été quantifiées par spectrophotométrie, et les valeurs des concentrations inhibitrices à 50 % (CI50) ont été déterminées graphiquement. Elles sont égales à 103,86µg/ml et 109,98µg/ml pour *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides* respectivement, contre 52,5µg/ml pour l'acide ascorbique utilisé comme référence.

Dans cette présente étude, la méthode d'affrontement par les solvants appliquée dans l'extraction des polyphénols indique une richesse de ces deux espèces en composés phénoliques. Ces substances sont dotées d'un pouvoir antioxydant important.

**MOTS-CLEFS:** Activité antioxydante, polyphénols, extraits, acétate d'éthyle.

## 1 INTRODUCTION

Ces dernières années, plusieurs recherches scientifiques ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification des antioxydants naturels à partir des substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires.

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une grande source d'antioxydants et d'antibactériens naturels pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. L'oxydation des lipides dans les produits alimentaires induit non seulement une diminution de la valeur nutritive de l'aliment, mais aussi des effets reconnus nuisibles pour le consommateur et qui peuvent être associés à des risques de plusieurs maladies chez l'homme [1], [2]. La présence d'antioxydants dans l'alimentation est devenue essentielle pour la qualité et la sécurité de l'aliment. Les effets négatifs des antioxydants synthétiques encouragent à leur substitution par des agents naturels. Des investigations scientifiques ont été effectuées sur des polyphénols qui ont été isolés et caractérisés dans certaines plantes aromatiques et médicinales.

Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'étude des extraits de deux plantes spontanées du haut Atlas Oriental du Maroc, il s'agit de *Rosmarinus Officinalis*, et *Thymus Satureioides*.

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante de la famille des Lamiacées poussant à l'état spontané sur le pourtour méditerranéen. Elle se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée mesurant environ de 0.8 à 2m de hauteur [3]. Cette plante affectionne les régions arides et sèches, les collines et montagnes peu élevées ainsi que les substrats calcaires, schisteux, argileux et rocailleux [4]. Son utilisation depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle se justifie par ses propriétés antiseptiques [5], antirhumatismale [6], anti-inflammatoire, antispasmodique [5], [7], antimicrobienne et anti hépatotoxique [8]. Son appréciation en tant qu'épice aussi bien pour l'assaisonnement que pour la conservation des produits alimentaires [9]. est soutenue par son activité anti-oxydante très élevée [10].

*Thymus Satureioides* connu localement sous le nom commun "Zaetra" en arabe et "Azoukeni" en berbère est l'une des plantes les plus utilisées comme épices et extraits à fort pouvoir antibactérien et anti inflammatoire dans la pharmacopée traditionnelle. En effet, cette espèce est très utilisée en médecine traditionnelle sous plusieurs formes : les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour guérir les maux de tête, hypertension et gastrites, en usage externe comme cicatrisants et antiseptiques. Son action antiseptique s'exerce également sur le système digestif et notamment en cas de diarrhée et il est aussi vermifuge [11], [12]. Au Maroc, le genre *Thymus* est représenté par 21 espèces dont 12 sont endémiques [13].

L'objectif de notre travail est de quantifier les teneurs en composés phénoliques des extraits de *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides* et d'évaluer leur pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH.

## **2 MATÉRIELS ET MÉTHODES**

### **2.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL**

*Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides* ont été récoltées ; au moment de leur floraison (mois de mars et mai 2013 pour *R. Officinalis* et *T. Satureioides* respectivement) ; dans la commune rurale Mzyzle à 15Km de Rich au Haut Atlas oriental du Maroc. Ensuite, ils ont été séchés à l'ombre pendant une dizaine de jours. L'identification botanique des espèces a été réalisée au laboratoire de Floristique de l'Institut Scientifique à Rabat.

### **2.2 ETUDE PHYTOCHIMIQUE**

#### **2.2.1 SCREENING PHYTOCHIMIQUE**

La phytochimie qualitative, basée sur des réactions de coloration et de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques, a été réalisée sur des extraits des deux espèces.

Les tests de caractérisation de différents groupes chimiques ont été effectués selon le protocole de DOHOU et al [14] ; JUDITH [15] ; DIALLO [16] ; BEKRO [17] ; Bruneton [18] et N'Guessan et al [19].

Les extraits nécessaires ont été obtenus par extraction avec les solvants suivants : l'éther de pétrole, le méthanol, l'éthanol, le chloroforme et l'eau distillée.

Le criblage phytochimique s'est basé aussi sur l'utilisation de plusieurs réactifs. La recherche des alcaloïdes a été assurée par le réactif de Dragendorff. La caractérisation des tanins catéchiques s'est effectuée par l'alcool isoamylique et l'acide chlorhydrique et les tanins galliques par le réactif de Stiasny, l'acétate de sodium et le chlorure ferrique. Pour détecter les stérols et les triterpènes, nous avons employé l'anhydride acétique et l'acide sulfurique concentré. L'alcool chlorhydrique dilué, les copeaux de magnésium et l'alcool isoamylique ont été utilisés pour rechercher les flavonoïdes. Le chloroforme, l'ammoniaque diluée et l'acide chlorhydrique ont permis de rechercher les substances quinoniques.

#### **2.2.2 PRÉPARATION DES EXTRAITS**

L'extraction des polyphénols a été effectuée à froid par macération de 30g de la poudre végétale (feuilles et sommités fleuries) dans 200ml du méthanol en solution (80%) pendant 48heures. Les filtrats obtenus ont été soumis à une évaporation sous vide à 50 °C.

### **LE FRACTIONNEMENT**

L'extraction des polyphénols a été réalisée selon la méthode de Bruneton [20] avec une légère modification. Elle est basée sur le degré de solubilité des polyphénols dans les solvants organiques. Le fractionnement de l'extrait hydrométhanolique brut a été mené en utilisant successivement trois solvants organiques de polarités différentes ; le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. En plus de la fraction hydrométhanolique (F<sub>0</sub>), nous avons récupéré quatre fractions, la fraction chloroformique (F<sub>1</sub>), la fraction d'acétate d'éthyle (F<sub>2</sub>), la fraction butanolique (F<sub>3</sub>) et la fraction aqueuse (F<sub>4</sub>), les différents extraits ont été conservés jusqu'à leur utilisation. La Figure 1, résume les étapes de fractionnement de l'extrait brut.

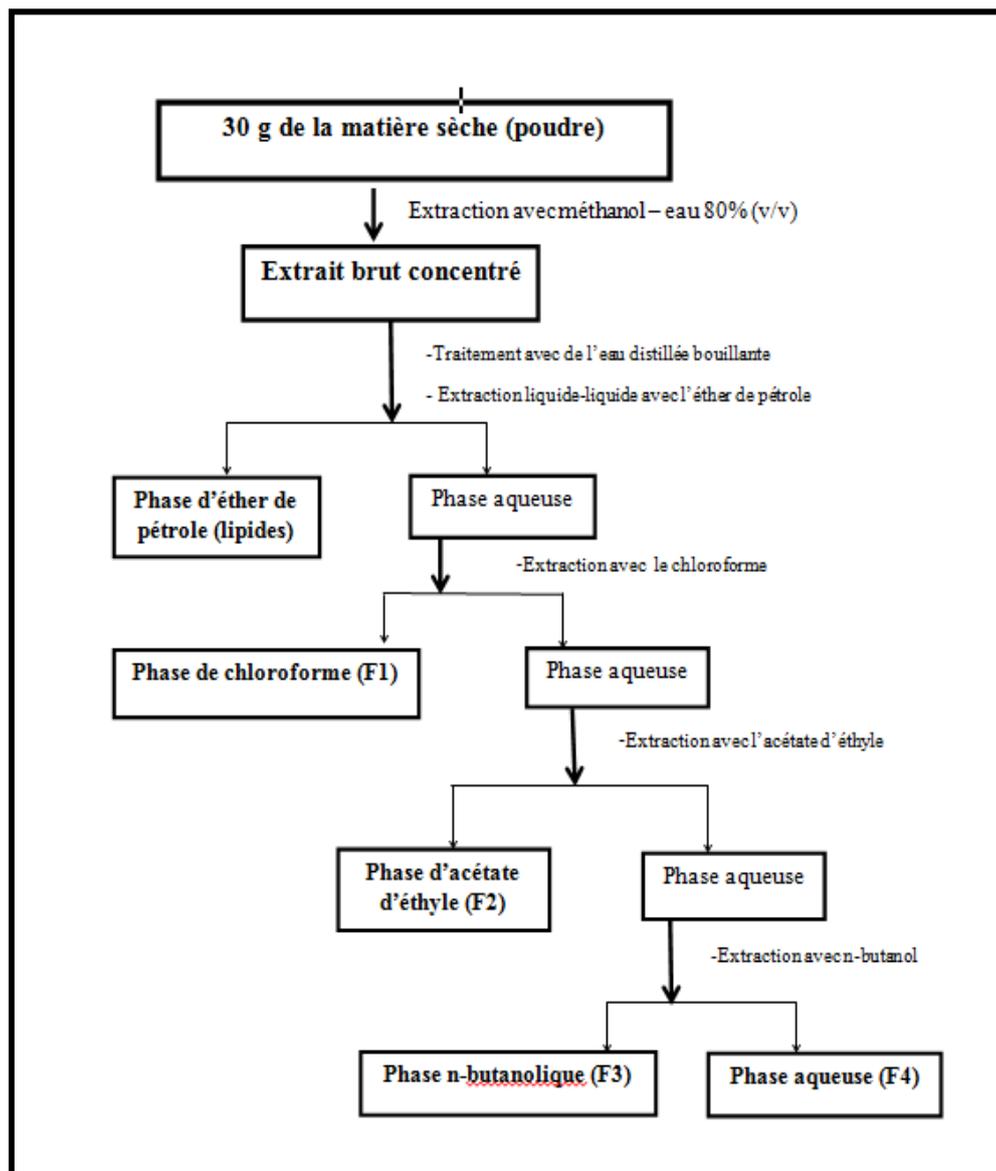


Figure 1 : les étapes de fractionnement des polyphénols

### 2.2.3 DOSAGE DES PHÉNOLS TOTAUX

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de Folin–Ciocalteu [21].

Dans une fiole jaugée de 100ml, une quantité de 40  $\mu$ l de chaque extrait est mélangée avec 1,5ml de réactif de Folin–Ciocalteu à 10% et 1,5ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 7,5% (m/v). Ensuite, la fiole est complétée avec de l'eau distillée puis laissé pendant 30 minutes à température ambiante, et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (UV mini-1240) à 765 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg GAE/g)

## 2.3 EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

### ▪ TEST AU DPPH

#### PRINCIPE :

Le composé chimique 2,2- diphényl -1-picrylhydrazyle (DPPH) possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères et restent dans leur forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue violette bien caractéristique de la solution de DPPH. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue due à une recombinaison des radicaux DPPH, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm [22]. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 diphényl- 1- picryl hydrazyle ) de couleur violette se réduit en 2,2 diphényl -1- picryl hydrazine de couleur jaune ( Maataoui et al ., 2006 ).

#### PROTOCOLE :

200µl de chaque solution éthanolique de la fraction d'acétate d'éthyle obtenue avec l'acétate d'éthyle F2 (F2 étant la fraction la plus riche en polyphénols, figures 2 et 3) à différentes concentrations (16 ; 32 ; 48 ; 64 ; 80 ; 96 ; 112 ; 128 ; 144 ; 160 ; 176 et 192µg/ml) sont ajoutés à 2,8 ml de la solution éthanolique du DPPH (0,024g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 200µl de l'éthanol avec 2,8 ml de la solution éthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. Le test est répété trois fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage de réduction de DPPH (PI%).

$$PI\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test)/Abs\ contrôle] \times 100$$

Les valeurs des concentrations pour inhiber ou réduire 50% de la concentration initiale du DPPH (CI50) ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique.

## 3 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

### 3.1 CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE

Les résultats du criblage phytochimique pour les deux espèces sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1: Résultats du criblage phytochimique des extraits du *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*

Groupe chimique	Résultats	
	<i>R.Officinalis</i>	<i>T.Satureioides</i>
Alcaloïdes	-	-
Flavonoïdes	++	++
Anthocyanes	-	-
Leucoanthocyanes	-	-
Catéchols	++	++
Tanins galliques	++	++
Tanins catéchiques	+	-
Saponosides	++ (IM=230)	++ (IM=142)
Stérols et triterpènes	++	++
Anthraquinones libres	++	+
Anthraquinones combinées	+	+
Composés réducteurs	-	-
Mucilages	++	-
Hétérosides cardiotoniques	+	+
Caroténoïdes	-	-
Oses et holosides	-	-
Tétrahydrocannabinols	-	-

(+) : présence ; (++) : abondance ; (-) : absence

Les résultats des tests de caractérisation phytochimique pour les deux espèces ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins, des Stérols et triterpènes, des saponosides, des anthraquinones libres, Hétérosides cardiotoniques et des catéchols. Mais il a été observé l'absence des alcaloïdes, des composés réducteurs, Caroténoïdes, Oses et holosides, Tétrahydrocannabinols et des coumarines. D'un autre côté les mucilages ont été présents dans *Rosmarinus Officinalis* par contre ils ont été absents dans *Thymus Satureioides*.

La richesse du *Rosmarinus* et du *Thymus* en stérols explique leur effet diurétique. D'autre part, les anthracénosides ont un effet irritant et laxatif sur le gros intestin cela explique l'effet stomacal du Romarin.

### 3.2 RENDEMENTS DES EXTRAITS

Les rendements des extraits hydrométhanoliques bruts de *R. Officinalis* et de *T.Satureioides* sont respectivement de l'ordre de 13,6% et 11,66% (tableau 2).

Pour le fractionnement des extraits bruts de deux espèces, les résultats montrent que la fraction butanolique représente le rendement le plus élevé (5,84% ; 5,31%) suivi de la fraction aqueuse (2,25% ; 2,93%) puis la fraction d'acétate d'éthyle (1,24% ; 2,2%). Par contre, le rendement le plus faible est obtenu avec la fraction chloroformique (1,06% ; 1,1%) pour *R. Officinalis* et *T.Satureioides* respectivement.

Les rendements sont calculés par rapport à 1g de la matière sèche.

Tableau 2 : Rendements des extraits et des fractions de *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*.

Espèce végétale	Rendements des extraits et des fractions (%)				
	Extrait brut	Fraction chloroformique	Fraction d'acétate d'éthyle	Fraction butanolique	Fraction aqueuse
<i>R. Officinalis</i>	13,6	1,06	1,24	5,84	2,25
<i>T.Satureioides</i>	11,66	1,1	2,2	5,31	2,93

### 3.3 TENEURS EN PHÉNOLS TOTAUX

La spectrophotométrie UV/Visible a permis de quantifier le taux des polyphénols présents dans les extraits préparés des deux plantes, les résultats sont représentés dans les figures 2 et 3.

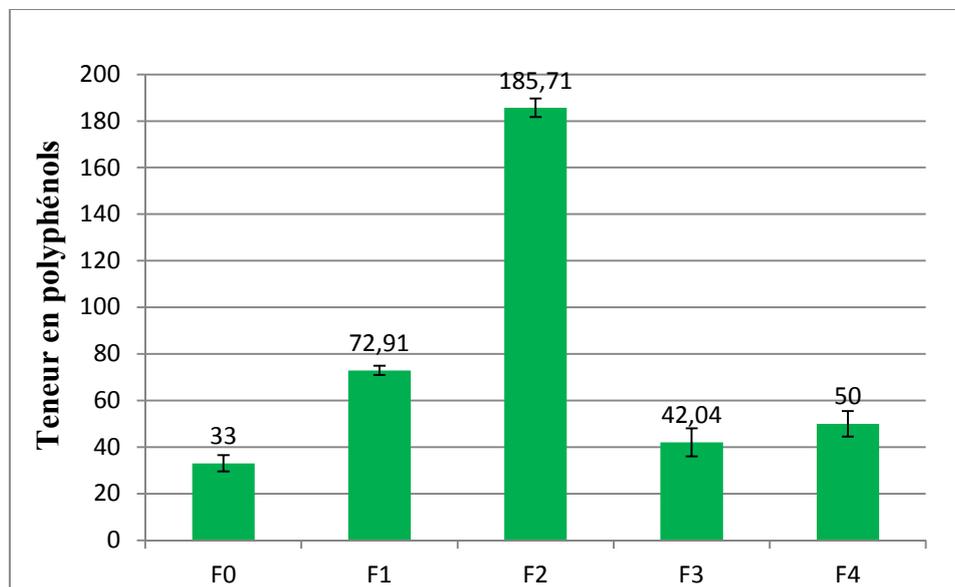


Figure 2 : Teneurs en polyphénols des fractions de *Rosmarinus Officinalis* exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg eqAG/g).

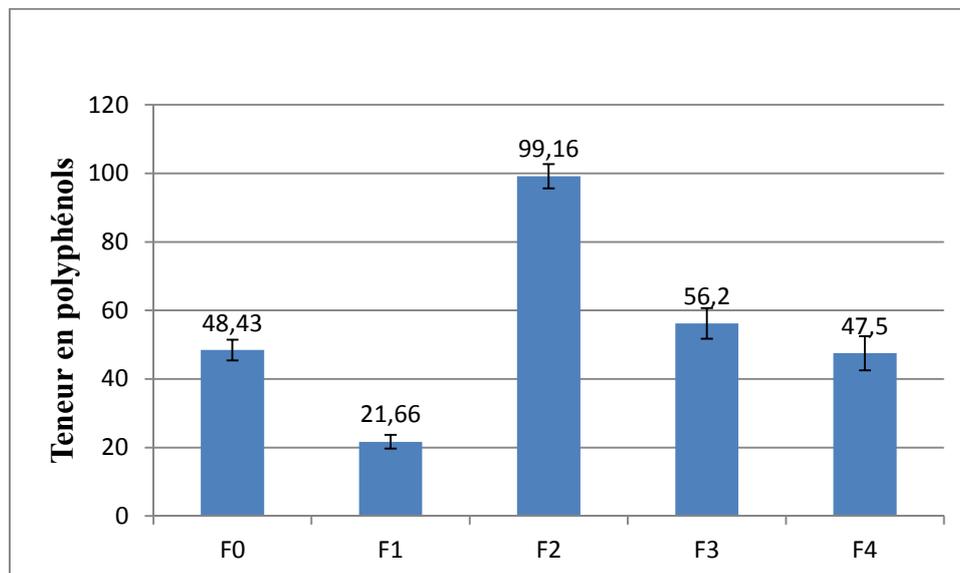


Figure 3 : Teneurs en polyphénols des fractions de *Thymus Satureioides* exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg eqAG/g).

Les résultats obtenus montrent que les deux plantes sont riches en polyphénols avec une teneur en phénols totaux pour toutes les fractions qui varie entre  $21,66 \pm 2$  mg et  $185,71 \pm 4$  mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

Nous constatons aussi que les fractions d'acétate d'éthyle renferment des concentrations assez élevées en polyphénols par rapport aux autres fractions pour les deux espèces. Par ailleurs nous remarquons que la concentration des polyphénols dans la fraction d'acétate d'éthyle de *Rosmarinus Officinalis* ( $185,71 \pm 4$  mgeqAG/g) est plus grande que celle de *Thymus Satureioides* ( $99,16 \pm 3,5$  mgeqAG/g) (Figure 2 et Figure 3).

Nos résultats sont proches à ceux de [23] dont les concentrations en polyphénols pour l'extrait brut de *Rosmarinus Officinalis* sont entre 34.1 et 119 mgeqAG/g.

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant la croissance de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols [24], [25].

La teneur phénolique d'une plante dépend aussi d'un certain nombre de facteurs tels que, les conditions climatiques, le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage [26].

### 3.4 ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

LES RESULTATS OBTENUS LORS DU TEST DE MESURE DE POURCENTAGE D'INHIBITION DU RADICAL DPPH SONT ENREGISTRES DANS LA FIGURE 5.

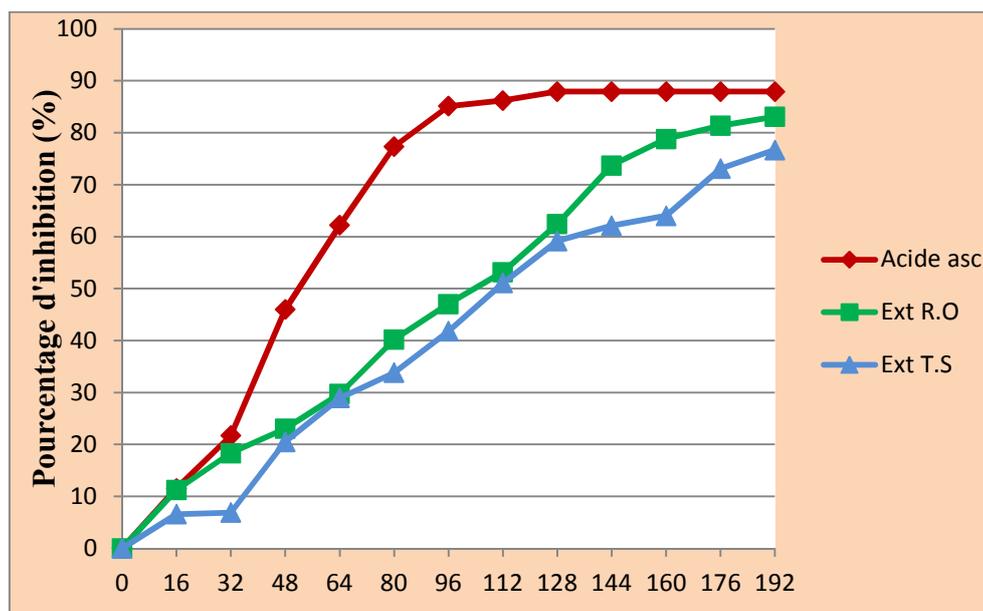


Figure 5 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des fractions d'acétate d'éthyle de *Rosmarinus officinalis* et *Thymus Satureioides*.

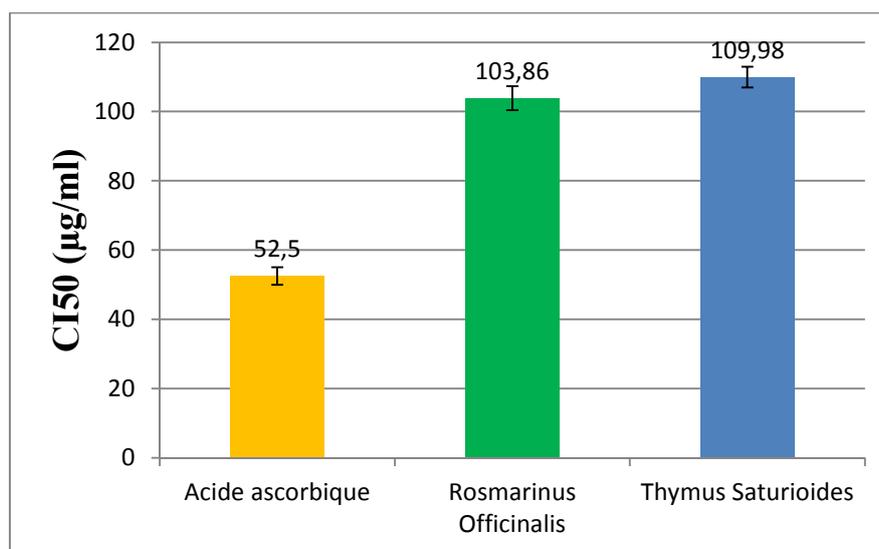


Figure 6 : Concentrations de réduction de 50% de DPPH.

Les résultats obtenus montrent que la fraction d'acétate d'éthyle de *Rosmarinus officinalis* et celle de *Thymus Satureioides* présentent des activités antioxydantes très importantes, avec des  $CI_{50}$  de  $103,86 \pm 3,5 \mu\text{g/ml}$  et  $109,98 \pm 3 \mu\text{g/ml}$  pour *Rosmarinus officinalis* et *Thymus Satureioides* respectivement. Ces activités sont inférieures à celle de l'acide ascorbique pris comme antioxydant de référence ( $CI_{50} = 52,5 \pm 1,5 \mu\text{g/ml}$ ).

Une valeur faible d' $CI_{50}$  indique une activité antioxydante forte.

Nous constatons aussi que l'extrait d'acétate d'éthyle de *Rosmarinus officinalis* a présenté une activité plus élevée que celle de *Thymus Satureioides*.

D'un autre côté, nous notons qu'il ya une corrélation entre la concentration des polyphénols et l'activité antioxydante, ce qui confirme que les polyphénols sont des antioxydants puissants capables d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules. Ces résultats sont conformes à ceux de plusieurs auteurs qui ont rapporté une telle corrélation positive entre le contenu phénolique total et l'activité antioxydante [27], [28], [29], [30]. En effet [24] a montré que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante [31], [32].

#### **4 CONCLUSION**

Dans ce travail, nous avons essayé de quantifier les teneurs en polyphénols dans les deux espèces *Rosmarinus officinalis* et *Thymus Satureioides*. Nous avons constaté que les deux plantes sont riches en métabolites secondaires, en particulier en polyphénols avec des teneurs qui varient entre 21,6mg et 185,71mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait pour toutes les fractions de ces deux plantes.

L'étude in vitro de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH a montré que les fractions d'acétate d'éthyle des deux espèces ont une grande capacité de piéger le radical DPPH avec des concentrations inhibitrices responsables de 50% de l'activité antiradicalaire ( $CI_{50}$ ) de l'ordre de  $103,86 \pm 3,5 \mu\text{g/ml}$  et  $109,98 \pm 3 \mu\text{g/ml}$  pour *Rosmarinus officinalis* et *Thymus Satureioides* respectivement. D'autres recherches complémentaires sont en cours, nécessaires pour caractériser et identifier les molécules bioactives présentes dans toutes les fractions des deux plantes par l'analyse HPLC.

#### **REMERCIEMENTS**

Nous adressons nos vifs remerciements à Monsieur M.IbnTattou professeur à l'institut scientifique de Rabat pour l'identification des espèces étudiées.

#### **REFERENCES**

- [1] Nessrien M.N.Y. and Mohamed A.T., Antioxidant and antimicrobial effects of marjoram and thyme in coated refrigerated semi fried mullet fish fillets. World J. Dairy & Food Sci., 2 (1): pp. 01-09. 2007.
- [2] Williams, G. M. Interventive prophylaxis of liver cancer. European Journal of Cancer Prevention, 3, 89-99. 1994.
- [3] Atik bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé. 7: 6-11. 2007.
- [4] El Amrani A., Zrira S., Ismaili-Alaoui M., Belanger A., Berrada M. et Benjilali B. Effet de séchage sur les rendements et la composition chimique de l'huile essentielle de romarin de Maroc in plantes médicinales et aromatiques et leurs huiles essentielles, Actes Editions, Rabat. 1997.
- [5] Juhas, S., Bukovska, A., Cikos, S., Czikkova, S., Fabian, D., Koppel, J., Antiinflammatory effects of *Rosmarinus officinalis* essential oil in mice. Acta Vet. Brno 78, 121–127. 2009.
- [6] Makino, T., Ono, T., Muso, E., Yoshida, H., Honda, G., Sasayama, S., Inhibitory effects of rosmarinic acid on the proliferation of cultured murine mesangial cells. Nephrol. Dial. Tansplant. 15, 1140–1145. 2000.
- [7] Beninca, J.P., Dalmarco, J.B., Pizzolatti, M.G., Frode, T.S., Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice. Food Chem. 124, 468–475. 2011.
- [8] Stefanovits-Banyai.E, M. H. Tulok, A. Hegedus, C. Renner, I. S. Varga, Acta Biologica Szegediensis, 47(1-4), 111-113. 2003.
- [9] Arnold, N., Valentini, G., Bellomaria, B., Laouer, H. Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. from Algeria and *R. officinallis* L. from other countries. J.essent.Oil Res. 9: 167-175. 1997.

- [10] Wang, W., N. Wu, Y.G. Zu \*, Y.J. Fu. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry* 108, 1019-1022. 2008.
- [11] Bellakhdar J. *La Pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, Paris, Ibis Press, 764. 1997.
- [12] Ebrahimi SN, Hadian J, Mirjalili MH, Sonboli A, Yousefzadi MM. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food Chemistry*: 110 (4), 927–931. 2008.
- [13] Benabid A. *Flore et écosystème du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité* Paris : Edition Ibis Press, 159-161. 2000.
- [14] DOHOU N. et al; Screening Phytochimique d'une Endémique IBÉRO MAROCAINE: *Thymelaea lythroides*; *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* 142; p: 61 -78. 2003.
- [15] JUDITH M.D.; Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* utilisé dans le traitement des dermatoses au TCHAD; Thèse de doctorat en pharmacie de l'Université de BAMAKO, MALI; p: 57- 64. 2005.
- [16] ] DIALLO A. ; Etude de la phytochimie et des activités biologique de *Syzygium guineense* ; Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université BAMAKO, MALI ; p: 38-47. 2005.
- [17] ] BEKRO Y.A. et al; Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* ; *Sciences et Natures* 4 (2) ; Ed: HEREND & ZARUCCHI ; p: 217-225. 2007.
- [18] Bruneton J., *Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales*. 4ème Edition. Technique et Documentation, 1268p. 2009.
- [19] N'Guessan K. et al. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire), *Sciences et Nature*, 6 (1), 1-15. 2009.
- [20] Bruneton J, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 2ème édition. Édition Tec et Doc .Paris, France. 1993.
- [21] Singleton V.L. et Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. 16, 144-153. 1965.
- [22] Popovici Cristina; Ilonka Saykova ; Bartek Tylkowski, Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel* 2009, 4, 25-39. 2009.
- [23] Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H.C. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.* 100: 553-559. 2007.
- [24] Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bourouaoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdely, C. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. 331: 372-379. 2008.
- [25] Yosr Zaouali ; Taroub Bouzaine ; Mohamed Boussaid; Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology* 48, 3144–3152. 2010.
- [26] Podsedek, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*. 40:1-11. 2007.
- [27] ] Hua Li, Xiaoyu Wang, Peihong Li, Yong Li, Hua Wang. Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Powder Assessed by Different Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 16 (6), 67-73. 2008.
- [28] Angelov G., Boyadzhiev L., Georgieva S. Antioxydant properties of some Bulgarian wines. *Journal of International Scientific Publication: Materials, Methods and Technologies*, 3(1), 143-150. 2008.
- [29] Makris D. P., Boskou G., Andrikopoulos N. K. Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. *Bioresource Technology*, 98, 2963-2967. 2007.
- [30] Berrin Bozan, Goksel Tosun, Derya Ozcan. Study on polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antioxydant activity. *Food chemistry*, 209, 426-430. 2008.
- [31] Heim, K-E., Tagliaferro, A-R., Bobilya, D-J. Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 13: 572–584. 2002.
- [32] Torres de pinedo, A., Pen alver, P., Morales, J.C. Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidant : structure-activity relationship. *Food Chemistry*, 103 :55-61. 2007.