

ORIGINAL ARTICLE

OPEN ACCESS

Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of polyphenols from leaf extracts of a spontaneous *Phlomis* from Northern Algeria

Bachir NABTI, Ikram SISALAH, Khadidja TAIBAOU, Safia BOURKAIB

Department Laboratory of Materia Medica [Pharmacognosy] - Faculty of Pharmacy - University of Algiers-1 ; Algeria.

ABSTRACT

Introduction. Phenolic compounds or polyphenols have anti-radical properties and fight against cellular aging. This work consists in assaying these compounds obtained by ultrasound and reflux from the leaves of *Phlomis*, followed by an evaluation of the antioxidant and antibacterial activities on n-butanol, chloroform and ethyl acetate fractions. **Results.** The n-butanol extract (reflux) gives the best contents of total phenolic compounds ($T_{TPC} = 15.96 \pm 0.09$ ug Eq. Catechin / mg of extract), The acetate ethyl extract (reflux) gives the best contents of total flavonoids ($T_{TFL} = 33.98 \pm 4.98$ ug Eq. Rutin / mg of extract), and the chloroform extract (reflux) is richer on condensed tannins ($T_{TCN} = 757.67 \pm 14.32$ ug Eq. Catechin / mg of extract). The antibacterial activity of the extracts was slightly positive against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. On the other hand, no antibacterial activity was observed against strains of *Escherichia coli*. The chloroform and n-butanol (reflux) extracts showed a strong ability to scavenge the DPPH radical comparable to that of ascorbic acid (IC_{50} Chloroform Ext. = 79.99 ± 1.48 ug/ml; IC_{50} n-Butanol Ext. = 94.96 ± 1.70 ug/ml and IC_{50} Ethyl Acetate Ext. = 588.68 ± 10.88 ug/ml versus $IC_{50 vit C} = 55.26 \pm 1.01$ ug/ml).

ARTICLE HISTORY

Received 03 Feb 2023

Accepted 24 Mar 2023

KEYWORDS

Polyphenols, reflux, ultrasound, *Phlomis*, antioxidants, antimicrobials

CORRESPONDING AUTHOR

Bachir NABTI

nabtibachir113@gmail.com

INTRODUCTION

Le genre *Phlomis* est largement utilisé dans le bassin méditerranéen pour ses nombreuses vertues thérapeutiques. Cette étude a pour objectifs une étude phytochimique et une évaluation des activités antioxydantes et antibactériennes des extraits de feuilles d'une espèce répandue dans la région de Chlef dans l'ouest d'Algérie : *Phlomis crinita* Cav⁽¹⁾.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Matériel végétal : Les feuilles sont récoltées en mois de janvier 2018 dans la région de Oued El Fodda de la commune de Beni Rached dans la wilaya de Chlef à 830 mètres d'altitude (Latitude : 36° 16' 50.19"N - Longitude : 1° 30' 57.70"E). La flore

d'Algérie de Quezel et Santa (1963) a servi pour la confirmation de l'identité⁽²⁾. Les feuilles (500 grammes) sont mises à sécher pendant quelques semaines en couche mince, à l'ombre, à température ambiante, dans un endroit sec et aéré jusqu'à dessiccation complète. Elles sont conservées dans des sacs en papier à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la poussière jusqu'à utilisation⁽³⁾.

1.2. Méthodes

1.2.1. Screening phytochimique

Il est réalisé sur les phases aqueuses ou organiques par des réactions usuelles en se référant aux, Bruneton 2016, Faugeras G 1965 ainsi qu'aux travaux de Ahmed T et al. 2013, Bhandary SK et al 2012, Dialla D 2000 et Tiwari P et al 2011.

Chaque réaction a été comparée à un témoin, et les résultats sont exprimés comme suit : Réaction franchement positive : (++)

Réaction positive : (+), Réaction d'interprétation difficile : ($\pm$), Réaction négative : (-) ^(5,6,7).

Les feuilles de *Phlomis crinita* ont été séchées pendant quelques semaines en couche mince, à l'ombre, à température ambiante, dans un endroit sec et aéré jusqu'à dessiccation complète, puis broyer à l'aide d'un mortier jusqu'à obtention d'une poudre, qui a été extraite par deux méthodes d'extraction, une traditionnelle à reflux et l'autre moderne par ultrason ^(5,7).

Cinq (05) grammes de matière végétale sont extraits par le mélange : méthanol - eau (70/30, V/V) pendant (01) heure. Après filtration et évaporation à sec, la solution est laissée macérer dans l'eau distillée pendant 24h ^(5,7).

Dans une ampoule à décanter on procède à une délipidation au n-hexane et à des extractions successives par des solvants de polarité croissante au chloroforme, acétate d'éthyle et au n-butanol, avec des volumes de 3 x 50 ml pour chaque solvant. Les (03) extraits sont évaporés à sec à 44° puis pesés et repris dans le méthanol. ^(5,7).

Calcul du rendement : il est déterminé par le rapport suivant : $R (\%) = \frac{P_1 - P_2}{P_3} \times 100$; (R : Rendement ; P1 : poids du ballon après évaporation ; P2 : poids du ballon avant évaporation. ; P3 : poids de la matière végétale de départ).

1.2.2. Dosage des composés phénoliques totaux (CPT) :

La méthode de dosage des CPT est celle de Folin-Ciocalteu développée par Singleton *et al.* ^(9,10).

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et phosphomolybdique (H3PMo12O40). Il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène(W8O23) et de molybdène (Mo8O23). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 765nm ^(9,10).

Le mode opératoire consiste à prendre un volume de 200 μ l de l'extrait, et ajouter un volume de 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu (dilué dix fois). Après 4 minutes, verser un volume de 800 μ l de Carbonate de sodium (Na2CO3) (7.5%) sur la solution. Placer les tubes dans l'obscurité. Après deux heures de temps, lire les résultats sur spectrophotomètre à 765 nm (Catalano *et al.*, 1999) ^(9,10).

La concentration des CPT est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard catéchine (0-100 μ g/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents de catéchine par microgramme d'extrait (μ g EC/mg) ^(9,10).

1.2.3. Dosage des flavonoïdes totaux (FLT)

Les flavonoïdes totaux ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl3) ^(9,11). La technique est basée sur la

formation d'un complexe flavonoïde-aluminium qui a une absorption maximale à 430 nm ^(9,11).

Mode opératoire : 1ml de chaque extrait est ajouté à 1ml d'une solution d'AlCl3 2 %. Après 10 minutes de réaction à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430nm. (Lamaison et Carnat (1991) cité par Bahorun (1997) ^(9,11).

Expression des résultats : La concentration des flavonoïdes totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon rutine (0-40 μ g/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents de rutine par microgramme d'extrait (μ g ER/mg) ^(9,11).

1.2.4. Dosage des tanins condensés (TNC)

Le dosage des tanins condensés est réalisé selon la méthode à la vanilline ^(8,11).

Principe : Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en milieu acide pour produire un complexe coloré (ion carbonium coloré en rouge) mesuré à 500 nm ^(9,12).

Mode opératoire : 400 μ l de chaque extrait, sont ajoutés à 3 ml d'une solution méthanolique à 4% de vanilline, ensuite on ajoute 1.5 ml d'acide chlorhydrique concentré. Après 15 mn de réaction à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 550 nm (Heimler *et al.* 2006) ^(9,12).

Expression des résultats : La concentration des tanins condensés est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon catéchine (0-300 μ g/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents de catéchine par microgramme d'extrait (μ g EC/mg) ^(9,12).

1.3. Screening pharmacologique

1.3.1. Etude de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante obtenue avec le solvant (méthanol-eau) (par reflux et a été testée par la méthode de DPPH (2,2diphényl-1-picrylhydrazyl). (Molyneux P, 2006) ^(13,14).

Principe : Le DPPH est un radical libre stable possédant une coloration violet foncé qui devient jaune pâle lorsqu'il est réduit (en présence d'un antioxydant) ^(12,13).

Mode opératoire : Préparation de la solution de DPPH : Le DPPH 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (C15H12N5O6 ; Mr 394,33), est solubilisé dans le méthanol absolu pour avoir une solution de 0,004 % (stable 48h à l'obscurité et à +4°C) ^(13,14).

Préparation des extraits à tester : Pour chacun des 2 extraits une gamme de dilution est préparée à partir de la solution mère (obtenue après évaporation) ^(13,14).

Essai au DPPH : Dans des tubes secs, on introduit 1 ml de chaque dilution, plus 1 ml de solution méthanolique DPPH à 0,004%,

ensuite on agite par un vortex. Les tubes sont placés dans l'obscurité, à température ambiante pendant 30 min.

La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517nm par un spectrophotomètre. Un blanc (contrôle négatif) est préparé ; il est composé de 1 ml de méthanol et de 1 ml de DPPH (0,004%).

Pour chaque dilution on réalise l'opération trois fois ^(13,14).

Expression des résultats : Pour obtenir la concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH de 50%, les résultats sont exprimés en activité antioxydante. & L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre, est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol : $AA\ (%) = (A_0 - A / A_0) \times 100$; (AA=L'activité antioxydante (%); A0= La densité optique du blanc ; A= La densité optique de l'extrait dilué). Les résultats sont ensuite portés sur la courbe AA = f (concentration de l'extrait) ^(13,14).

La valeur IC50, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH et est déterminée graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes dilutions des extraits testés. Cette valeur est comparée avec celle de l'acide ascorbique testé dans les mêmes conditions (gamme de 25-750ug/ml) ^(13,14).

1.3.2. Etude de l'activité antibactérienne

C'est une évaluation qualitative in vitro de l'action des extraits de feuilles de *Phlomis crinita* L ; sur des souches sélectionnées en fonction de leur disponibilité et leur pathogénicité (infections nosocomiales). Il s'agit des souches jeunes de « l'American Type Culture Collection » (ATCC) [*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ; *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ; *Escherichia coli* (ATCC 25922)] ^(15,16) :

Ré-isolément des souches ATCC : par prélèvement des colonies les plus apparentes des boîtes d'ATCC à l'aide de pipette Pasteur préalablement stérilisée par la flamme bleue du bec bunsen ; puis ensemencement des colonies prélevées sur une gélose nutritive, par déconcentration à l'aide de la technique des quatre cadrans. Les boîtes sont mises à l'étuve à 37°C pour une durée de 24h ^(15,16).

Réalisation de l'antibiogramme : à partir des souches réisolées, prélever à l'aide d'une pipette Pasteur stérilisée à la flamme bleue du bec bunsen, les colonies les plus individualisées et les incorporer dans de l'eau physiologique, la turbidité de cette suspension est ajustée à 0,5 Mc Ferland. Imbiber un écouvillon stérile par la suspension bactérienne, puis essorer contre la paroi du tube afin d'éliminer l'excès de suspension, puis ensemencer des géloses Muller Hinton, par stries serrées, en tournant la boîte et l'écouvillon de 60° trois fois, et en finissant par ensemencer la paroi de la boîte de pétrie. Les boîtes sont mises de côté, près du

bec bunsen, en attendant la préparation des disques d'antibiogramme (disques de cellulose de 6 mm de diamètre qui ont été découpés sur du papier Wattman n°1) . Imprégner les disques par l'extrait de *Phlomis* afin de les déposer sur la gélose de milieu de culture. Après quelques secondes de contact, disposer le disque au milieu des boîtes de pétrie par une pince stérilisée à la flamme bleue du bec bunsen. Les boîtes sont mises à l'étuve, pendant 24 heures, à une température de 37°C ^(15,16).

2. RESULTATS

2.1. Rendement extractif

Les masses des résidus secs obtenus après extraction sont respectivement 0,364 ± 0,001 gr pour le reflux (R) et 0,153 ± 0,001 gr pour l'ultrason (U). L'extraction donc par reflux (7,27 ± 0,01 %) a donné un meilleur rendement que celui obtenu par l'ultrason (3,06 ± 0,01 %).

2.2. Screening chimique

Les résultats sont représentés dans le tableau 1.

Tableau 1. Résultats du screening phytochimique

Classe Chimique	Extrait	Résultat
Alcaloïdes	Macérât Milieu acide	(-)
Composés Phénoliques	Infusé (20 %)	(++)
Flavonoïdes	Ethanolique	Alcalins (+) AlCl3 (++)
Tanins	Infusé (20 %)	FeCl3 (+) Gélatine (++) Stiasny (+) T. Hydrolysables (+)
Anthocyanes	Infusé (20 %)	(-)
Coumarines	Éthanolique	(-)
Antraquinones	Teinture à 3%	(-)
Saponosides	Décocté à 1%	(++)
Hétérosides cardiotoniques	Chloroformique	(-)
Acide Aminé Protéine	Aqueux	Biuret (-)
Sucre (Molish)	Aqueux	(-)
Sucre réducteur	Aqueux	(±)
Désoxy sucre	Chloroformique	(-)

2.3. Teneur en composés phénoliques totaux (CPT) : La courbe d'étalonnage obtenue avec le standard catéchine est représentée dans la figure 3 et le tableau 2 ^(9,10) :

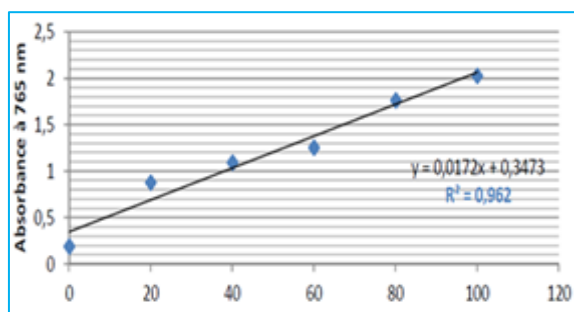


Figure .3 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (CPT).

L'extrait n-butanolique (reflux) renferme une teneur plus importante en CPT comparé aux autres extraits. Les extraits obtenus par ultrason ont donné des valeurs insignifiantes.

Tab .2 : Teneur en Composés Phénoliques totaux (Folin – Ciocalteu, ug Eq. Catéchine / mg d'extrait)

Extrait	Concentration en ug d'Eq.C/mg d'extrait
Chloroformique (R)	6.26 ± 1.04
Acétate d'éthyle (R)	0.19 ± 0.02
N-butanolique (R)	15.96 ± 0.09

2.4. Teneur en Flavonoïdes totaux (FLT) : La courbe d'étalonnage obtenue avec le standard rutine est représentée dans la figure 4 et le tableau 3. ^(17,18)

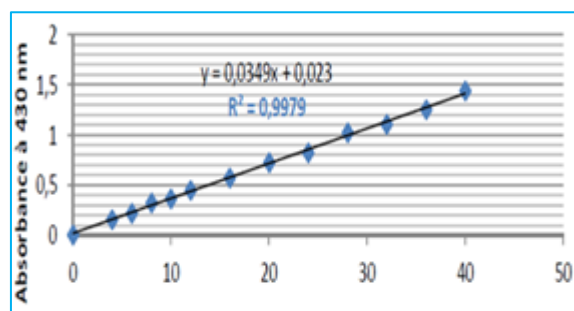


Figure 4. Courbe d'étalonnage de la rutine (FLT).

Tableau 3. Teneur en Flavonoïdes (ug/ml) (AlCl₃, ug Eq. Rutine / mg d'extrait)

Extrait	Concentration en µg d'Eq. Rutine/mg d'extrait
Chloroformique (R)	3.92 ± 8.63
Acétate d'éthyle (R)	33.98 ± 4.98
N-butanolique (R)	2.89 ± 0.58
Chloroformique (U)	26.03 ± 7.85
Acétate d'éthyle (U)	3.92 ± 8.63

Les extraits d'acétate éthylique (reflux) et Chloroformique (ultrason) renferment les teneurs en flavonoïdes les plus élevées.

2.5. Teneur en tanins condensés : La courbe d'étalonnage obtenue avec le standard catéchine est représentée dans la figure 5 et le tableau 4 ^(9,12)

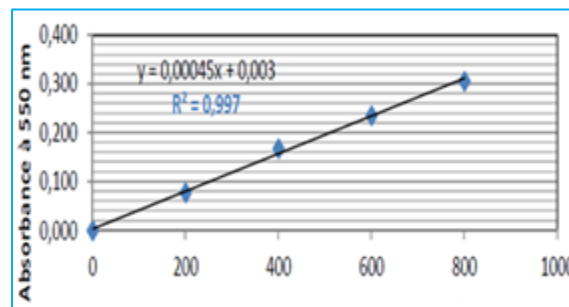


Figure 5. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

L'extrait chloroformique (reflux) est plus riche en tanins condensés suivi de l'extrait n-butanolique (reflux). L'extrait acétate éthylique (ultrason) semble plus riche en TNC que celui obtenu par reflux ^(9,12).

Tab.4 : Teneur en tanins condensés (Vanilline, ug Eq. Catéchine / mg d'extrait)

Extrait	Concentration en µg d'Eq. Catéchine/mg d'extrait
Chloroformique (R)	757,67 ± 14,32
Acétate d'éthyle (R)	28,61 ± 1,65
N-butanolique (R)	326,98 ± 12,39
Chloroformique (U)	48,10 ± 12,40
Acétate d'éthyle (U)	291,85 ± 14,29

2.6. Screening pharmacologique

2.6.1. Activité antioxydante : Les résultats sont représentés dans la figure 6.

Les différents extraits présentent une forte capacité à piéger le radical DPPH avec des valeurs de la IC₅₀ allant de 79,99 ± 1,48 ug /ml à 588,68 ± 10,88 ug/ml. La teneur en CPT laisse supposer que d'autres composés de nature phénolique présents dans le Phlomis sont responsables de cette activité ^(19,20).

2.6.2. Activité antimicrobienne :

Les extraits chloroformique et n-butanolique et d'acétate d'éthylique ont légèrement inhibé la croissance des souches de *pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Par contre aucune activité antibactérienne n'a été

observée *vis-à-vis* des souches d'*Escherichia coli* (ATCC 25922) ⁽²⁰⁾.

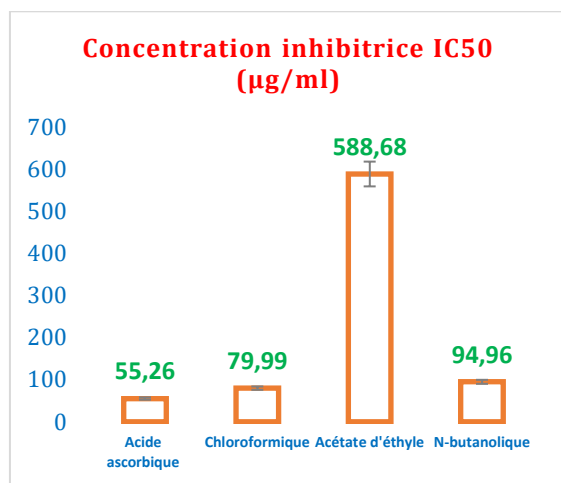


Figure.6 : Les concentrations inhibitrices IC 50 des différents extraits (ug/ml)

3. DISCUSSION

L'extraction par reflux a donné un meilleur rendement par rapport à l'ultrason ; ceci pourrait être expliqué par la durée de contact entre solvant extractif et matière végétale qui est plus longue dans le premier cas ⁽²¹⁾.

Le criblage phytochimique a démontré la présence des composés phénoliques (totaux, flavonoïdes, tanins) et des saponosides, par contre les alcaloïdes et les hétérosides cardiotoniques sont absents ⁽¹⁶⁾.

Les extraits obtenus à partir des feuilles renferment une quantité notable en composés phénoliques : flavonoïdes, tanins, saponosides et sucres réducteurs avec des teneurs qui varient en fonction des deux méthodes d'extraction (reflux et ultrason) et du choix du solvant, ce qui correspond aux résultats des travaux de Limem-Ben Amor I et al (2009) ⁽²¹⁾.

L'étude des propriétés antibactériennes des extraits a révélé une légère activité sur quelques souches pathogènes comme *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Par contre elle s'avère complètement négative sur *E. coli*. Ceci pourrait être attribuée à la présence d'une membrane externe, qui possédait des chaînes de polysaccharides hydrophiles qui agissent comme barrière aux composés polyphénoliques ; alors que la membrane cellulaire des bactéries Gram (+) contient des mucopolysaccharides, des protéines et une quantité moindre de phospholipides. Ainsi, la perméabilité, l'entrée et la réaction de la plupart des antibiotiques et agents antimicrobiens à travers l'enveloppe cellulaire (la membrane externe et cytoplasmique) sont très

efficaces contre les bactéries Gram (+) en fonction de la réaction avec la couche protéique (mucopolysaccharides ou peptidoglycane) ^(22,23).

L'étude des propriétés antioxydantes a révélé une activité très significative de tous les extraits (chloroformique, n-butanolique, acétate - éthylique) avec des valeurs de IC50 comparables à celle de l'acide ascorbique ; ces résultats se rapprochent de ceux de Limem-Ben Amor I. et al ; 2009 et Ramili. I ; 2013 ^(24,25).

Il serait intéressant de compléter ce travail par des études de toxicité *in vivo* et *in vitro*, et de déterminer la structure chimique des substances bioactives à l'origine des activités des extraits.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

4. REFERENCES

- Anton R, Wichtl M. Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science thérapeutique. 2e éd. Cachan : Technique et Documentation ; 2003.
- Quezel P, Santa S. Nouvelle Flore d'Algérie et des régions Désertiques Méridionales. Tome I et II. Paris : CNRS ; 1963. p. 1160-1170.
- Boukhalfa D, Nabti B. Physicochemical, chromatographic and spectral analyzes of essential oils of Hoggar Myrtle of Tamanrasset in southern Algeria. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences. 2023 ;22(02):128-135. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.22.2.0075>.
- Dellile L. Les PLANTES MEDICINALES d'ALGERIE. 2e éd. Alger : BERTI éditions ; 2013. p. 203.
- Brunton J. Pharmacognosie (5^e Éd.) Phytochimie - Plantes médicinales. Paris : Lavoisier-TEC ET DOC ; 2016.
- Boutefnouchet S, Champy P, Girard C, Grovel O, Hennebelle T, Poupon E, Seguin E. Pharmacognosie, Obtention et propriétés des substances actives médicamenteuses d'origine naturelle. Paris : Elsevier / Masson ; 2020. DOI : 10.1016/C2020-0-06715-3.
- Guy F, Robert L. Guide De Travaux Pratiques D'Essai Des Drogues Végétales. 1965.
- Mhiri N. Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange « Maltaise demi sanguine » et exploration de l'effet anticorrosion de l'acier au carbone [Thèse]. Carthage, Lorraine : Université de Carthage, Université de Lorraine ; 2016.
- Selka MA, Achouri MY, Chenafa A. Activités antioxydantes et antimicrobiennes des feuilles de Vitis vinifera L. d'Algérie. Revue algérienne de pharmacie. 2022 ;04(01).
- Benmeziiane F, Djamai R, Cadot Y, Seridi R. Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques du raisin de table frais algérien, (Vitis Vinifera). Int Food Res J. 2014 ;21(3).
- Ojeil A, El Darra N, El Hajj Y, Mouncef PB, Rizk TJ, Maroun RG. Identification et caractérisation des composés phénoliques extraits du raisin chateau KSARA. LSJ. 2010 ;11(2):117-131.
- Ying C, Wan D. Détermination quantitative des flavonoïdes totaux et

- individuels dans les tiges et les feuilles de *Buddleja davidii* et *Buddleja albiflora*. *Pharmacognie Mag.* 2012 ;8(32) :273-279.
13. Katalinic V, Mozina SS, Generalic I, Skroza D, Ljubenkovic I, Klancnik A. Profil phénolique, capacité antioxydante et activité antimicrobienne des extraits de feuilles de six variétés de *Vitis vinifera* L. *Int J Food Prop.* 2013 ;16(1) :45-60. DOI: 10.1080/10942912.2010.517716.
 14. Boukhalfa D, Nabti B. Evaluation of the hypoglycemic and antimicrobial activities of the essential oil of *Myrtus nivellei* from Tamanrasset (southern Algeria). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences.* 2023 ;22(02):272-279. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.22.2.0082>.
 15. Bekdouch A, Belhadj A. Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du lentisque *Pistacia lentiscus* L. Diplôme docteur en pharmacie, université d'Alger. 2014.
 16. Fettah A. Activité antimicrobienne des extraits aqueux de deux plantes médicinales : *Phlomis crinita* (Lamiacées) & *Carthamus caeruleus* L. 2011.
 17. Malešev D, Kuntić V. Enquête sur les chélates métal-flavonoïdes et la détermination des flavonoïdes via des réactions de complexation métal-flavonoïde. *J Serb Chem Soc.* 2007 ;72(10):921-939.
 18. Nijveldt RJ, Van Nood E, Van Hoorn DEC, Boelens PG, Van Norren K, Van Leeuwen PAM. Flavonoïdes : un examen des mécanismes d'action probables et des applications potentielles. *Suis J Clin Nutr.* 2001 ;74 :418-425.
 19. Hennebelle T. Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregriinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbenacées). Thèse de Doctorat, Université des sciences et technologies de Lille, France. 2006.
 20. Nabti B, Bammoune N, Meliani H, Boukhalfa D. Overview of artisanal production and consumption of spirulina in southern Algeria : example of Tamanrasset. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences.* 2023 ;22(02) :280-289. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.22.2.0087>
 21. Limem-Ben Amor I, Boubaker J, Ben Sgaier M, Skandrani I, Bhouiri W, Neffati A, Kilani S, Bouhlel I, Ghedira K, Chekir-Ghedira L. Enquête sur l'activité biologique d'extraits polaires isolés de *Phlomis crinita* Cav ssp. *mauritanica* Munby. *Drug Chem Toxicol.* 2009 ;32(1):38-46.
 22. Georgescu L, Stefanakis MK, Kokkini S, Katerinopoulos HE, Pirintsos A. Caractérisation chimique et génétique des espèces de *Phlomis* et des hybrides sauvages en Crète. *J Phytochem.* 2015.
 23. Limem-Ben Amor I, Boubaker J, Ben Sgaier M, Skandrani I, Bhouiri W, Neffati A, Kilani S, Bouhlel I, Ghedira K, Chekir-Ghedira L. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Tunisian *Phlomis crinita* Cav. subsp. *mauritanica* Munby. *J Food Agric Environ.* 2008;6(3&4):106-109.
 24. Nabti B, Cherifi W, Rabia B. Overview on the role of aromatherapy in therapeutic practices in Algeria. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences.* 2023 ; 22(03) : 010-015. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.22.3.0092>.
 25. Limem-Ben Amor I, Boubaker J, Ben Sgaier M, Skandrani I, Bhouiri W, Neffati A, Kilani S, Bouhlel I, Ghedira K, Chekir-Ghedira L. Phytochimie et activités biologiques des espèces de *Phlomis*. *J Ethnopharmacol.* 2009.