

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

University Ferhat Abbas Setif 1

Faculty of natural and life
sciences



جامعة فرحات عباس، سطيف

كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

N°

Graduation thesis

Presented by

KOURICHE Hala

BOUMISSA Hadjer

For the fulfillment of requirements for the diploma of

MASTER

Field: **Biology**

Specialty: **Applied Biochemistry**

TOPIC

Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Scrophularia scorodonia* Ethanolic Extract

Presented in 24 /06 / 2025

Jury

President

AMOR Loubna

MCA. UFA Sétif 1

Promotor

BOUDOUKHA Chahra

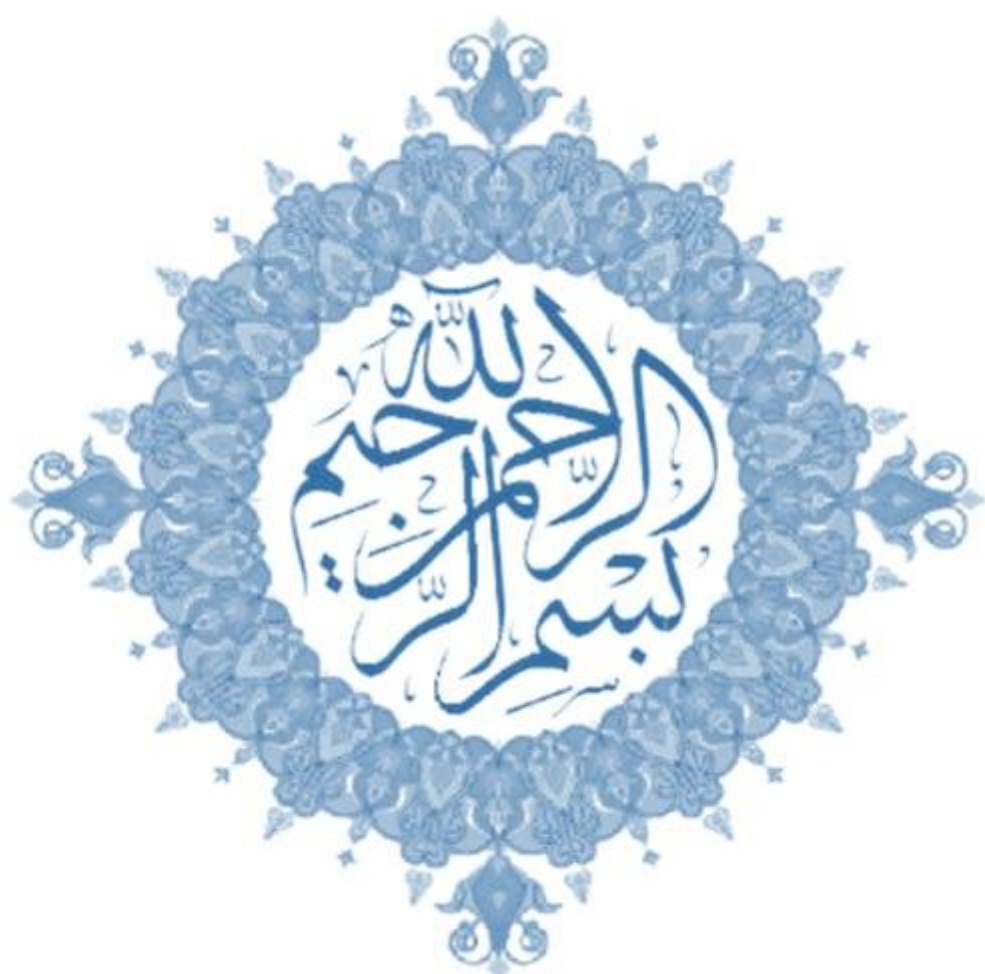
MCA. UFA Sétif 1

Examinator

NOUIOUA Wafa

MCA. UFA Sétif 1

2024/2025





Acknowledgements

First and foremost, we would like to thank Almighty and Merciful **GOD** for granting us the strength and courage to successfully complete this work.

We express our deep gratitude and respectful appreciation to our supervisor, **Dr. BOUDOUKHA Chahra**, for her guidance and advice to bring out the best in us, as well as for her support throughout the preparation period of our graduation thesis.

Our thanks also go to the members of the jury : **Dr. AMOR Loubna and Dr. NOUIOUA Wafa** who honored us by accepting to evaluate our work.

We sincerely thank all the professors whose advice and efforts over the past years have brought us to this point. A heartfelt thank you for the quality of teaching we have received.



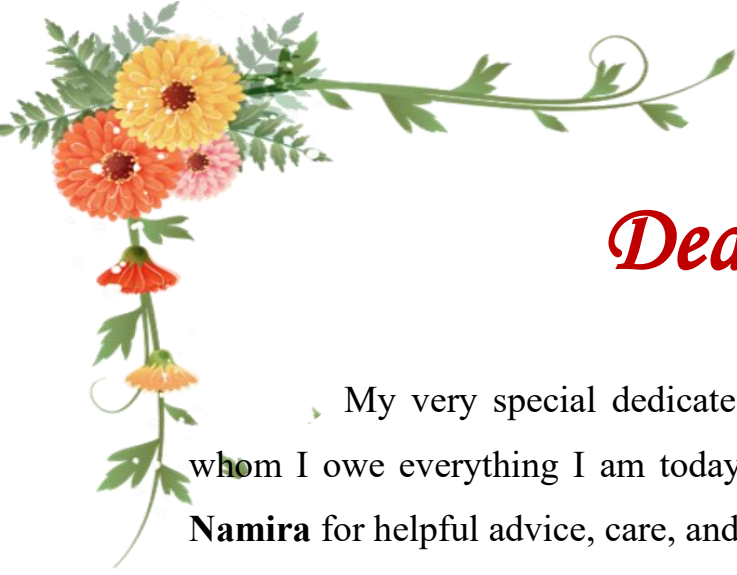
إهداء

إلى سنديّ وقُدوتيّ، معلّميّ الخير، مربّيّ على البرّ، صاحبيّ الإحسان والفضل...
من مهّدا لي سبيل العلم نُصحا وتوجيها، صبرا ودعما لا متناهيّا ولا مشروطاً... من شجّعاً خياراتي،
واحترماً قراراتي، ووثقا بخطواتي، وحصناني بالدّعاء... والدّيّ الحبيبيّن.
وأثنيّ بالعرفان إخوتي والأهل والخَلان.

ثمّ إلى كلّ طالب علم لم يُرد من طلبه زهوا وصيتا وبهرجة حفلات، إلى من قصد لبّ المعرفة
والفهم لا بريق الألقاب والشّهادات، إلى من يسعى ويُحاول رغم التّقصير وكثرة العثرات، إلى من لا تنتهي
رحلة تعلّمه بتخرّج وتلويح بالقبّعات، بل من هناك -حقيقة- يبدؤها بالذّات...
مَنْ تعاضّم إحساسه بالمسؤوليّة تجاه علم وجب أن يُزكّيه عطاءً واستزادةً من فتوحات، تجاه وطن وأمة
تَرُقّب شبابا طامحا يقود النّهضات، علما يُصيّره فعلا وعُدّة يتقوّى بها مؤمنا بسنن الله في الحياة... أن
"اعملوا"، "أعدّوا"، و"اسعوا"... فلا يستوي العاملون العالمون مع أصحاب الفُعود والجهالات... وأن
"استبقوا"، "أحسنوا"، "وتوكّلوا"... فبالله وحده تتمّ الصّالحات وتُدرَك الغايات...
وإليّ إنجازا جديدا لعلّي أستبشر، وخطوةً على الطّريق لعلّي أَرْضَى، وعنيّ الإله يَرْضَى، والحمد
لله رب العالمين.

هالة قوريش

خزينة دفعة طوفان الأقصى



Dedication

My very special dedicate this work should go to the one person to whom I owe everything I am today, my father **Tahar** and to my dear mother **Namira** for helpful advice, care, and affection. I dedicate this work to :

My best brothers **Issam**, **Abderrahime**, and **Akram**

My best sister **Hanane** and her son **Racim**

To all my family : **Boumissa**



LIST OF CONTENTS

Abstract

Abbreviation list

Figures and Tables list

1. Introduction.....	1
2. Materials and Methods.....	5
2.1. Chemical reagents.....	5
2.2. Plant material collection	5
2.3. Plant extraction	5
2.4. Extraction yield.....	5
2.5. Phytochemical screening	5
2.5.1. Phnolic test.....	6
2.5.2. Flavonoids test	6
2.5.3. Saponins test	6
2.5.4. Quinones test.....	6
2.5.5. Terpenoids test	6
2.5.6. Anthraquinones test	6
2.6. Total Phenolics Content (TPC).....	7
2.7. Total Flavonoids Content (TFC)	7
2.8. Evaluation of the antioxidant activity of the plant	8
2.8.1. DPPH Radical Scavenging Activity Assay.....	8
2.8.2. Ferric reducing antioxidant power (FRAP)	9
2.8.3. Total antioxidant capacity (TAC)	9
3. Results and discussion	11
3.1. Extraction yield.....	11
3.2. Phytochemical screening	11

3.3. Polyphenols and Flavonoids Content	11
3.5. Antioxidant Activity	12
3.5.1. DPPH radical scavenging.....	13
3.5.2. The ferric reducing antioxidant power.....	14
3.5.3. The total antioxidant capacity	17
.4 Conclusion	19
5. Bibliographic References.....	21

ملخص

Scrophularia scorodonia هو نوع عشبي ينتمي إلى فصيلة الخنازيريات (*Scrophulariaceae*) ، ويستخدم تقليدياً في الطب الشعبي ويُعرف بتركيبته الكيميائية النباتية الغنية. تهدف هذه الدراسة إلى التحقق من الخصائص المضادة للأكسدة لنبات *S. scorodonia* ، من خلال التركيز على استخلاص وتحديد كمية المركبات الفينولية والفلافونويدية فيه، بالإضافة إلى تقييم نشاطه المضاد للأكسدة باستخدام تحليلات مخبرية (*in vitro*). تم الحصول على مستخلص مائي كحولي (70% إيثانول) عن طريق نقع الأجزاء الهوائية للنبات، كما أُجري تحليل كيميائي نباتي للكشف عن أهم أصناف مواد الأيض الثانوية. تم تحديد المحتوى الكلي للفينولات (TPC) والمحتوى الكلي للفلافونيدات (TFC) باستخدام طريقتي فولين-سيوكالتيه وطريقة كلوريد الألمنيوم اللونية، على التوالي. وقد تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال ثلاث اختبارات متكاملة: اختبار تثبيط جذر DPPH ، واختبار القدرة المختزلة للحديد (FRAP) ، واختبار السعة الكلية المضادة للأكسدة (TAC). بلغ مردود الاستخلاص 12.44%، وكشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود البوليفينولات، والفلافونويدات، والكينونات. وُجد أن المحتوى الكلي للفينولات يبلغ 0.12 ± 60 ملغ مكافئ حمض غاليك/غ من المستخلص، في حين أن المحتوى الكلي للفلافونويدات بلغ 0.054 ± 26 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/ملغ من المستخلص. أظهر اختبار DPPH نشاطاً مانعاً للجذور الحرة يعتمد على التركيز، بقيمة $IC_{50} = 56.21$ ميكروغرام/مل، مقارنة بـ 6.97 ميكروغرام/مل لمركب BHA المرجعي. أما اختبار FRAP فقد أظهر قدرة اختزالية قصوى بلغت 13.36 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/مل مع قيمة EC_{50} قدرها 47.55 ± 296.38 ميكروغرام/مل، بينما أظهر اختبار TAC أن القدرة الكلية للمستخلص على مقاومة الأكسدة تعادل 44.73% و 37.65% من قدرة حمض الأسكوربيك والكيرسيتين، على التوالي. تُبرز هذه النتائج القدرة المضادة للأكسدة المهمة لنبات *S. scorodonia*، مما يدعم استخدامها التقليدي ويشجع على إجراء مزيد من الدراسات المستقبلية.

الكلمات المفتاحية: *Scrophularia scorodonia* ، النشاط المضاد للأكسدة، البوليفينولات، الفلافونويدات، DPPH، FRAP، TAC.

Abstract

Scrophularia scorodonia, a herbaceous species belonging to the Scrophulariaceae family, has been traditionally used in folk medicine and is known for its rich phytochemical composition. The present study aimed to investigate the antioxidant properties of *S. scorodonia* plant, focusing on the extraction and quantification of its phenolic and flavonoid compounds, as well as evaluating its antioxidant activity using *in vitro* assays. A hydroalcoholic extract (70% ethanol) was obtained by maceration of the aerial parts of the plant, and phytochemical screening was performed to identify major classes of secondary metabolites. Total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) were determined using the Folin–Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric methods, respectively. Antioxidant activity was assessed through three complementary assays: DPPH radical scavenging, ferric reducing antioxidant power (FRAP), and total antioxidant capacity (TAC). The extraction yield was 12.44%. Phytochemical screening revealed the presence of polyphenols, flavonoids, and quinones. The TPC was found to be 60 ± 0.12 mg GAE/g extract, while TFC was 26 ± 0.054 μ g QE/mg extract. The DPPH assay showed a dose-dependent radical scavenging activity with an IC₅₀ of 56.21 μ g/mL, compared to 6.97 μ g/mL for BHA. The FRAP assay indicated a maximum reducing power of 13.36 μ g QE/mL with an EC₅₀ value of 296.38 ± 47.55 μ g/mL, and the TAC assay demonstrated 44.73% and 37.65% of the antioxidant capacity of ascorbic acid and quercetin, respectively. These results highlight the significant antioxidant potential of *S. scorodonia*, supporting its traditional use and encouraging future investigations.

Keywords: *Scrophularia scorodonia*, antioxidant activity, polyphenols, flavonoids, DPPH, FRAP, TAC.

مذكرة ماستر في الكيمياء الحيوية التطبيقية

الموضوع: المحتوى الفينولي والنشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الإيثانولي لنباتة *Scrophularia scorodonia*

المشرف: د. بودوخة شهرة

مقدمة من طرف: قوريش هالة وبوميسة هاجر

الملخص

"Scrophularia scorodonia" هو نوع عشبي ينتمي إلى فصيلة الخنازيريات (*Scrophulariaceae*)، ويُستخدم تقليدياً في الطب الشعبي ويُعرف بتركيبته الكيميائية النباتية الغنية. تهدف هذه الدراسة إلى التحقق من الخصائص المضادة للأكسدة لنبات *S. scorodonia*، من خلال التركيز على استخلاص وتحديد كمية المركبات الفينولية والفلافونويدية فيه، بالإضافة إلى تقييم نشاطه المضاد للأكسدة باستخدام تحليلات مخبرية (*in vitro*). تم الحصول على مستخلص مائي كحولي (70٪ إيثانول) عن طريق نقع الأجزاء الهوائية للنبات، كما أُجري تحليل كيميائي نباتي للكشف عن أهم أصناف مواد الأيض الثانوية. تم تحديد المحتوى الكلي (TPC) والمحتوى الكلي للفلافونيدات (TFC) باستخدام طريقتي فولين-سيوكالتيه وطريقة كلوريد الألومنيوم اللونية، على التوالي. وقد تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال ثلاث اختبارات متكاملة: اختبار تثبيط جذر DPPH، واختبار القدرة المختزلة للحديد (FRAP)، واختبار السعة الكلية المضادة للأكسدة (TAC). بلغ مردود الاستخلاص 12.44٪، وكشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود البوليفينولات، والفلافونيدات، والكينونات. وُجد أن المحتوى الكلي للفينولات يبلغ 60 ± 0.12 ملغ مكافئ حمض غاليك/غ من المستخلص، في حين أن المحتوى الكلي للفلافونيدات بلغ 26 ± 0.054 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/ملغ من المستخلص. أظهر اختبار DPPH نشاطاً مانعاً للجذور الحرة يعتمد على التركيز، بقيمة $IC_{50} = 56.21$ ميكروغرام/مل، مقارنة بـ 6.97 ميكروغرام/مل لمركب BHA المرجعي. أما اختبار FRAP فقد أظهر قدرة اختزالية قصوى بلغت 13.36 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/مل مع قيمة EC_{50} قدرها 296.38 ± 47.55 ميكروغرام/مل، بينما أظهر اختبار TAC أن القدرة الكلية للمستخلص على مقاومة الأكسدة تعادل 44.73٪ و37.65٪ من قدرة حمض الأسكوربيك والكيرسيتين، على التوالي. تُبرز هذه النتائج القدرة المضادة للأكسدة المهمة لنباتة *S. scorodonia*، مما يدعم استخدامها التقليدي ويشجع على إجراء مزيد من الدراسات المستقبلية.

الكلمات المفتاحية: *Scrophularia scorodonia*، النشاط المضاد للأكسدة، البوليفينولات، الفلافونيدات، DPPH، FRAP، TAC.

Master dissertation in Applied Biochemistry

Theme: Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Scrophularia scorodonia* Ethanolic Extract

Presented by: KOURICHE Hala et BOUMISSA Hadjer

Promotor: Dr BOUDOUKHA Chahra

Abstract

Scrophularia scorodonia, a herbaceous species belonging to the *Scrophulariaceae* family, traditionally used in folk medicine and known for its rich phytochemical composition. The present study aimed to investigate the antioxidant properties of *S. scorodonia* plant, focusing on the extraction and quantification of its phenolic and flavonoid compounds, as well as the evaluation of its antioxidant activity using *in vitro* assays. A hydroalcoholic extract (70% ethanol) was obtained by maceration of the aerial parts of the plant, and phytochemical screening was performed to identify major classes of secondary metabolites. Total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) were determined using the Folin–Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric methods, respectively. Antioxidant activity was assessed through three complementary assays: DPPH radical scavenging, ferric reducing antioxidant power (FRAP), and total antioxidant capacity (TAC). The extraction yield was 12.44%. Phytochemical screening revealed the presence of polyphenols, flavonoids, and quinones. The TPC was found to be 60 ± 0.12 mg GAE/g extract, while TFC was 26 ± 0.054 µg QE/mg extract. The DPPH assay showed a dose-dependent radical scavenging activity with an IC_{50} of 56.21 µg/mL, compared to 6.97 µg/mL for BHA. The FRAP assay indicated a maximum reducing power of 13.36 µg QE/mL with an EC_{50} value of 296.38 ± 47.55 µg/mL, and the TAC assay demonstrated 44.73% and 37.65% of the antioxidant capacity of ascorbic acid and quercetin, respectively. These results highlight the significant antioxidant potential of *S. scorodonia*, supporting its traditional use and encouraging future investigations.

Keywords: *Scrophularia scorodonia*, antioxidant activity, polyphenols, flavonoids, DPPH, FRAP, TAC.