الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

University of Ferhat Abbas – Setif 1

Faculty of Natural and Life Sciences

جامعة فرحات عباس سطيف 1

كلية علوم الطبيعة والحياة

DERARTEMENT OF BIOCHIMISTRY

N°……/SNV/2025

THESIS

Presented by

Aberkane Rihab

Baaraoui Madjeda

For the fulfillment of the requirements for the degree of

Master

Field: Biological Sciences

Special field: Applied Biochemistry

TOPIC

Free radical scavenging and reducing power activities of aqueous extracts of *Retama raetam*

Presented in 24/06/2025

JURY:

Chair:	**Kada Seoussen**	**MCB. UFA Setif 1**
Supervisor:	**Bouriche Hammama**	**Pr. UFA Setif 1**
Examiner:	**Kernouf Nassima**	**MCB. UFA Setif 1**

Laboratory of Applied Bichemistry

2024-2025

Acknowledgement

"In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful. All praises are due to Allah, the Almighty, to whom we owe our success and all the chances that have made us the people we are today."

This work would not have been possible without the guidance, support, and encouragement of several individuals, to whom we are deeply grateful.

First and foremost, we would like to sincerely thank our supervisor, professor **Bouriche Hammama** for her constant support and thoughtful guidance throughout every stage of this research. Her patience, dedication, and willingness to help whenever needed made a real difference and gave us the confidence to keep pushing forward.

We are also very thankful to **Kada Seoussen** for her helpful insights and steady support. Her feedback and encouragement were always appreciated and helped us stay on the right track.

Our gratitude also goes to the jury, **Dr. *Karnouf Nassima***, for taking the time to read our work and provide constructive feedback that helped us improve the quality of our thesis.

Finally, we want to extend heartfelt thanks to everyone who helped us—whether through advice, encouragement, or simply believing in us. This thesis is not just the result of our efforts, but also a reflection of the support we've received along the way.

DEDICATION

اللهم أجعل هذا العلم شفيعاً لي يوم تسألني عن شبابي فيما أفنيته، وزدني علماً ونفعاً به.....

الى من أحمل اسمه بكل فخر واعتزاز، إلى صاحب السيرة العطرة والفكر المستنير إلى من شجعني على المثابرة طوال عمري طاب بك العمر يا سيد الرجال وطبت لي عمرا يا أبي الغالي.

الى من علمتني الاخلاق قبل الحروف الى الجسد الصاعد بي الى الجنة الى الداعمة الأولى، الى من سهلت لي الشدائد بدعائها ولطالما تمنيت ان اقر عينها ..... امي الغالية.

إلى ضلعي الثابت وأمان ايامي الى من شددت عضدي بهم فكانوا لي ينابيع ارتوي منها إلى خيرة أيامي وصوفتها
الى أخي، اخواتي

الى الروح الطاهرة سلام عليك من الأرض الى الفردوس الأعلى.....جدتي الحبيبة

إلى رفاق الخطوة الأولى والخطوة ما قبل الأخيرة، إلى من كانوا خلال السنين العجاف سحابا ممطرا..... صديقاتي

لم تكن الرحلة قصيرة ولا الطريق محفوفا بالتسهيلات لكنني فعلتها فالحمد لله الذي يسر لنا البدايات وبلغنا النهايات بفضله وكرمه.

﴿وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ﴾.

ماجدة

DEDICATION

الذي يسر البدايات وأكمل النهايات وبلغنا الغايات
الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات الحمد لله ما تم جهد إلا بعونه ما ختم سعي إلا بفضله

بسم الله والصلاة والسلام على رسول الله
أهدي ثمرة جهدي المتواضع
إلى من وهبوني الإرشاد والأمل، والنشأة على شغف الاطلاع والمعرفة...
إلى من كانوا سندي في كل خطوة...
إلى من منحوني الحب والدعاء والصبر...
إلى أمي الغالية، نبع الحنان، ونور دربي.
وإلى أبي العزيز، صاحب القلب الكبير والدعم الدائم.
إلى إخوتي، الذين كانوا لي عونًا وأنسا في كل الأوقات.
إلى جدتي الحبيبة، أمي الثانية وملاذي الآمن ونبع الدفء الذي لا ينضب.
إلى أساتذتي من الطفولة حتى التخرج، الذين زرعوا فيّ حب العلم والقيم النبيلة.
وإلى كل من رافقني في هذه الرحلة الطويلة...

رحاب

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص المائي لـهذه النبتة. تنتمي *نبتة Retama raetam* المعروفة باسم الرتَم إلى عائلة البقوليات (Fabaceae) وهي شجيرة صحراوية تنتشر في بلدان شمال إفريقيا.، في هذه الدراسة تم اعتماد طريقة مستخلص مائي بالغلي (Aq.Ed) ومستخلص مائي بالموجات فوق الصوتية (Aq.Eu) وحدد محتوى عديدات الفينول والفلافونويدات باستخدام فولين-سيوكالتيو (Folin-Ciocalteu) وكلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) على التوالي. أظهرت النتائج أن المستخلص Aq.Ed يحتوي على كمية من عديدات الفينول أكبر (65.90 ميكروغرام/GAE ملغ من المستخلص الجاف) مقارنة بالمستخلص Aq.Eu الذي يحتوي على 57.92 ميكروغرام/GAE ملغ من المستخلص الجاف، أما محتوى الفلافونويدات فقد كان متقارباً في المستخلصين، حيث قدر بـ 5.39 و4.86 ميكروغرام/QE ملغ على التوالي. كما اختبر النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبارات ازالة للجذور الحرة DPPH وABTS واختبار قدرة الاختزال Reducing power. أظهرت النتائج أن المستخلص Aq.Ed يمكنه ازالت •DPPH بنسبة تصل إلى 87%، بينما وصل تأثير مستخلص Aq.Eu 75% تجاه •DPPH وبالمثل، أظهر اختبار •ABTS أن كلا المستخلصين يمتلكان نشاطاً مضاداً للأكسدة معتبرا، حيث سجل كل من Aq.Ed و Aq.Euنسبة 89.79% و75.47% عند التركيز 600 ميكروغرام/مل على التوالي. من الجدير بالذكر أن المستخلص Aq.Ed كان أكثر فعالية من مستخلص Aq.Eu . من ناحية أخرى، أظهر مستخلص Aq.Edو Aq.Eu قدرة اختزالية قوية، حيث قدرت EC_{50} بـ 227.79 ميكروغرام/مل و 185.03ميكروغرام/مل على التوالي. تشير هذه النتائج إلى أن نبتة *Retama raetam تتمتع* بنشاط مضاد للأكسدة ملحوظ، مما يدعم استخدامها العلاجي وفي لصناعة المنتجات الغذائية.

الكلمات المفتاحية: مضاد للأكسدة، الفلافونويدات، الإجهاد التأكسدي، عديدات الفينول،*Retama raetam* .

Abstract

The plant *Retama raetam* known as rtem, belong to Fabaceae family, is a desert shrub native to several countries of North Africa. The present study aims to evaluate the antioxidant activity of the aqueous extract of *Retama raetam*. Two Extracts were prepared: the decoction Aqueous extract (Aq.Ed) and the ultrasonic aqueous extract (Aq.Eu). Total polyphenol and flavonoid contents were quantified by the Folin-Ciocalteu and $AlCl_3$, respectively. Results showed that Aq.Ed contains more polyphenols (65.90 ± 4.8µg GAE/ mg of dried extract) than Aq.Eu (57.92 ± 6.5µg GAE/mg of dried extract). However, flavonoids of the two extracts were very close, with 5.39 ± 1.32 µg QE/mg and 4.86 ± 1.30 µg QE/mg of dried extract, respectively. The antioxidant activity was examined using the DPPH and ABTS radicals scavenging assays and the reducing power assay. Results showed that Aq.Ed can scavenge DPPH• up to 87%, whereas the scavenging effect of Aq.Eu was 75%. Similarly to the DPPH• assay, both extracts exerted a considerable antioxidant activity toward ABTS•. Indeed, at 600µg/mL, Aq.Ed and Aq.Eu showed 89.79% and 75.47%, respectively. It is notable, that Aq.Ed is more potent than Aq.Eu. On the other hand, *Retama raetam* Aq.Ed and Aq.Eu exerted a powerful reducing ability with EC_{50} value of 227.79 ± 20.52µg/mL and 185.03 ± 70.24µg/mL, respectively. These results suggest that *Retama raetam* exhibits considerable antioxidant activity, which support its therapeutic use and in Food products.

Keywords: Antioxidant, flavonoids, oxidative stress, polyphenols, *Retama raetam.*

Résumé

La plante *Retama raetam*, connue sous le nom de rtem, appartient à la famille Fabacées. C'est un arbuste désertique originaire de plusieurs pays d'Afrique du Nord. La présente étude vise à évaluer l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Retama raetam*. Deux extraits ont été préparés : l'extrait aqueux par décoction (Aq.Ed) et l'extrait aqueux par ultrasons (Aq.Eu). La teneur en polyphénols et les flavonoïdes ont été quantifiées par le Folin-Ciocalteu et le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Les résultats montrent que Aq.Ed contient plus de polyphénols (65.90 ± 4.8 µg GAE/mg d'extrait sec) que Aq.Eu (57.92± 6.5 µg GAE/mg d'extrait sec). Cependant, les flavonoïdes dans les deux extraits sont très proches, avec 5.39 ± 1.32 µg QE/mg et 4.86 ± 1.30 µg QE/mg d'extrait sec, respectivement. L'activité antioxydante a été examinée à l'aide des tests de piégeage DPPH• et ABTS•, ainsi que le test du pouvoir réducteur. Les résultats ont montré que l'extrait Aq.Ed peut piéger DPPH• jusqu'à 87%, tandis que l'extrait Aq.Eu peut piéger DPPH• jusqu'à 75 %. De manière similaire, le test ABTS• a révélé que les deux extraits présentent une activité antioxydante considérable, avec 89.79 % pour Aq.Ed et 75.47 % pour Aq.Eu à la concentration 600 µg/mL. Il est à noter que Aq.Ed est plus puissant que Aq.Eu. Par ailleurs, les extraits Aq.Ed et Aq.Eu ont montré une forte capacité réductrice, avec EC_{50} de 227.79 ± 20.52 µg/mL et 185.03 ± 70.24 µg/mL, respectivement. Ces résultats suggèrent que la plante *Retama raetam* possède une activité antioxydante notable, soutenant ainsi son utilisation thérapeutique et Produits alimentaires.

Mots clés : Antioxydants, flavonoïdes, stress oxydatif, polyphénols, *Retama raetam.*

List of figures

Figure 1: General concept of oxidative stress 2
F**igure 2**: Reactive oxygen species 2
Figure 3: Sources of free radicals..... 3
Figure 4: Lipid peroxidation process 4
Figure 5: Protein oxidation and most common outcomes..... 5
Figure 6: 8-hydroxy 2-deoxyguanosine formation by oxygen radicals 5
Figure 7: Oxidative stress and chronic diseases..... 7
Figure 8: Representation of ROS-induced mitochondrial abnormalities in Alzheimers's disease ..... ……8
Figure 9: Mutant HTT (mHTT) induced mitochondria-mediated reactive oxygen species (ROS) accumulation 9
Figure 10: Contribution of ROS in the development of Parkinson's disease and the protective roles of dietary antioxidants..... 10
Figure 11: Defense mechanisms of antioxidants 11
Figure 12: Base structure of the flavonoids 15
Figure 13: Photography of *Retama raetam*..... 17
Figure 14: *Retama raetam* collected in March 2025 from Oued Souf region..... 19
Figur 15: Standard curve of gallic acid..... 21
Figure 16: Standard curve of quercetin..... 21
Figure 17: DPPH• scavenging capacity of *Retama raetam* decoction (Aq.Ed)and ultrasonic extract (Aq.Eu) and BHT 26
Figure 18: IC50 of *Retama raetam* decoction extract (Aq.Ed) and ultrasonic extract (Aq.Eu) and BHT..... 27
Figure 19: ABTS• scavenging capacity of *Retama raetam* decoction extract (Aq.Ed), ultrasonic extract (Aq.Eu) and BHT 28
Figure 20: Reducing power of *Retama raetam* decoction extract (Aq.Ed), ultrasonic extract (Aq.Eu) and BHT 29
Figure 21: EC50 of *Retama raetam* decoction extract (Aq.Ed) and ultrasonic extract (Aq.Eu) and BHT..... 29

List of tables

Table1: Yield of *Retama raetam* extraction.....24

Table2: Total polyphenols and flavonoids present in decoction extract (Aq.Ed) and ultrasonic extract (Aq.Eu) of arial part of *Retama raetam* 25

List of abbreviations

BHT: Butylated hydroxytoluene

CAT: Catalase

COX: Cyclooxygenase

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

GAE: Gallic acid equivalents

GPx: Glutathione peroxidase

GSH: Glutatione

GSSG: Glutatione disulfide

LDL: Low-Density Lipoproteins

LOX: Lipoxygenase

LRRK2: leucine-rich repeat kinase 2

NADP: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NADPH: Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NO_2: nitrogen dioxide

$O^{\cdot-}2$: Superoxide anion

PINK1: PTEN Induced Kinase 1

PLA: Phospholipase A

QE: Quercetin equivalent

RNS: Reactive nitrogen species

ROS: Reactive oxygen species

SNCA: Synuclein Alpha

SOD: Superoxide dismutase