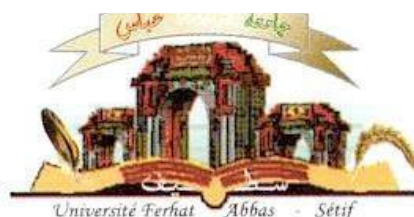


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم
العلم والبحث

جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

Ferhat Abbas University, Setif 1
Faculty of Natural and Life
Science



DEPARTMENT OF BIOLOGY AND ANIMAL PHYSIOLOGY

THESIS

Presented by

Latrèche Soumaya

Djouada Salsabil

kheraz Wisem

For the fulfillment of the requirements for the degree of

MASTER

Filed: Biological Sciences

Specialty: Cellular Physiology and Physiopathology

**Antioxidant and anti-inflammatory activities of the
aqueous extract of *Stipa tenacissima* L.**

Presented publically in :23/06/2025

Jury

President: Djidel Saliha

Full Professor

Univ Setif 1

Supervisor: Bouaziz Amel

Full Professor

Univ Setif 1

Examiner: Barghout Nihed

Associate Professor

Univ Setif 1

Laboratory of phytotherapy applied to chronic diseases

2024/2025

Acknowledgments

This thesis is the culmination of a collective effort carried out with commitment, rigor, and passion within our trio, where mutual support, respect, and complementarity have always been present. We wish to express our heartfelt thanks to all the people who contributed, directly or indirectly, to the realization of this project.

Our most sincere and profound thanks go to our supervisor ***Professor Bouaziz Amel***, for the trust he placed in us, the quality of his guidance, and his presence by our side throughout this journey. His scientific rigor, unwavering availability, and patient pedagogy have been a true source of inspiration for us. He knew how to guide us with rigor but also with great kindness, encouraging us to always go further in our thinking and to aim for excellence. Thanks to his insightful advice and critical perspective, we were able to progress, delve deeper into our subject, and better structure our approach. It is an honor to have been guided by such a dedicated, competent, and humane person.

We would also like to thank ***Professor Jidel Saliha*** for her practical support, her warm welcome in the laboratory, and her availability throughout our experiments. her help has been invaluable both technically and personally.

Our thanks also go to ***Dr. Barghout Nihad***, for the clarity and richness of her explanations, as well as for her reassuring and motivating presence throughout our academic journey.

A big thank you to ***Miss Moudjahed Bouthaina***, who has always been present with kindness and efficiency during the practical sessions. Her support, patience, and availability greatly facilitated our work.

Finally, we would like to highlight the wonderful camaraderie and cohesion that characterized our work as a trio. Each of us was able to bring our qualities, energy, and commitment to make this thesis a joint achievement of which we are proud.

Dedication

I dedicate this work, the result of long hours of reflection, perseverance, and passion, to those who have illuminated my path, supported my steps, and believed in me even when I doubted myself

To my beloved husband ***Abd elmalek***, for his unconditional support, his patience, and his trust in me throughout this journey. Thank you for always believing in my abilities, even in moments of doubt.

To my treasures, ***Arselane, Adam, and Nihel***,
my rays of sunshine, my reasons to never give up.
May these pages bear witness to what can be accomplished
With a little faith, a lot of love, and a pinch of gentle madness.

To my ***parents***,
for their love, their prayers, and the values they passed on to me. Thank you for always encouraging me to go further.

And to my ***colleagues at work***,

A special thank you to ***Asma*** and ***Sihem***
travel companions in this demanding adventure,
Thank you for your moral support, your advice, and your valuable collaboration. Working alongside you has been a true privilege.

This thesis is a part of me,
but it also belongs to you,
to you who have given me so much.

Soumaya

Dedication

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات، وبفضله نبلى الغايات ، وبكرمه تتوج سنوات السعي بالفرح والإنجاز
اليوم أقف في نهاية مشوار طويل، احمل شهادة لم تكن حلمًا لي (الخير فيما اختاره الله)، فأصبحت واقعا ملموسا، بفضل الله أولا، ثم بجهدى، وبدعم كل من
ساندني وأمن بي .

....لكن سنوات الجامعة لم تكن مجرد دراسة ومحاضرات وكتب، بل كانت حياة كاملة ، فكم من ليلة مرت وأنا اجاهد الوقت والظروف ، وكم من
صباح استقبلته بقلق، أخشى أن اتعثّر في منتصف الطريق مرت سنوات كنت خلالها
انضج مع كل تجربة وأقوى مع كل عثرة تعلمت ان النجاح لا يولد صدفة ، ولا يهدى هدية ، بل ينتزع بالصبر الطويل ، والإصرار الذي لا يلين
..... امي الحبيبة "نصيرة"
انت أعظم نعمة ، واجمل سند دعاؤك سر نجاحي ، ووجودك حولي امان لم يتغير يوما كنت الصبر الذي ارتاح اليه في كل تعب ، والعين التي
الأفضل مهما تعبت

..... وابي العزيز "ناصر"
زرعت في القوة العزيمة، وكنت مثالا للثبات ، وكنت فخورا بي في كل خطوة لكما الامتتان وكل الحب
وإلى خالي "لوصيف " وخالتي "العجلة" كنتم العون والسند لي واليد التي تدفعني للأمام.
إلى بسمه الروح و بلسم الجروح اخواتي وسيلة ، بارزة ، مريم صباح ، نسيمه ، كنزة

وإلى من شد عضدي و كان لي السند و الرفيق أخي الوحيد "عامر"

إلى من جمعتني بها الصدفة فكانت في الأيام العجاف خير عون و رفيقة الدرب و صديقة
الطفولة "اية"

وإلى رفيقة وعزيزتي التي التقيتها مجرد في موقف فأصبحت العزيزة "إكرام"

واهدي النجاح كل أفراد عائلتي "خراز"

ربما لاتروي الحكايات باكملها ، ولا تقال النهايات كما عشناها ولكن ما بين البداية والخاتمة ثمة امرأة وقفت بكل وسعها
...فاقول تخرجي اليوم ليس نهاية الطريق، بل بداية جديدة لطريق اكبر ، يحمل طياته طموحات جديدة، وأهداف
أسمى، ومسؤولية اكبر

اسأل الله ان يكتب لي ولكم والتوفيق في كل خطوة قادمة ، وأن يجعل القادم أجمل بإذن الله

وسام

Dedication

بسم الله الرحمن الرحيم

{ وَأَجْزُ دَعْوَاهُمْ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ }

سنينُ الجَهدِ إن طالت سَطُوى لها أمد وللامد انقضاء

"مشيتُ بالعزيمة وطننتُ بالله خيراً حتَّى وصلتُ فحمد الله على العطاء "

إلى من حصد الأشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم إلى من حملت اسمه فخرا وإعتزازاً، إلى من ساندني في مسيرتي الدراسية إلى من علمني وأرشدني وكان مبتغاه نجاحي باباً الغالي توفيق

إلى من حضنتني أحضانها قبل يديها، إلى شجرتي التي لا تنبل، إلى الضل الذي أوي إليه في كل حين، إلى من تطرق دعواتها بالفوز والظفر، وتبتهج فرحاً حين ازف لها فرحة نجاحي امي الغالية نورة

إلى من وهبني الله نعمة وجودهم إلى مصدر قوتي وأرضي الصلابة، وجدار قلبي المتين إخوتي

إلى ما إن ضاق بي الدنيا وسعت بخطاهم وإن سقطت كانوا أول من رفعوني بكلماتهم

إلى من رافقتني بالقلب قبل الدرب صديقاتي (إكرام ، أسماء ، سارة و صفية) وأحبتي عائلتي

جودة سلسبيل

LIST OF TABLES

Table1: List of the common reactive oxygen species (ROS).....	3
Table2: Diseases related with oxidative stress.....	4
Table3: The most commonly used NSAIDs	13
Table 4: Examples of anti-inflammatory medicinal plants	14

LIST OF FIGURES

Figure1: Stress oxidative	2
Figure2: Inflammatory response.....	9
Figure3: The types of inflammation	10
Figure4: Acute inflammatory	11
Figure5: Possible signs of chronic inflammation.....	12
Figure6: Tuft of <i>Stipa. tenacissima</i>	15
Figure7: Different parts of <i>Stipa tenacissima</i>	16
Figure8: Standard curve of gallic acid	19
Figure9: Standard curve of quercetin.....	20
Figure 10: The practice of croton on a mouse ear (Personnel photo).....	22
Figure11: Values of the inhibitory effect (IC ₅₀) of BHT.....	25
Figure12: Ic ₅₀ values of the aqueous extract of <i>S. tenacissima</i> and EDTA in the chelating activity	26
Figure13: Values of the inhibitory effect of the decoction extract control aspirin.....	28
Figure14: Anti-inflammatory effect of aqueous extract on croton oil induced ear edema in mice	29

LIST OF CONTENTS

Introduction.....	1
I- Oxidative stress	2
I-1 Definition	2
I-2 Free radicals	2
I.3 Biological functions of free radicals.....	3
I-4 Diseases and oxidative stress	3
I-5 Antioxidants	5
I-6 Types of antioxidants	5
I-6-1 Enzymatic antioxidants	5
I-6-1-1 Superoxide dismutase	5
I-6-1-2 Catalases.....	5
I-6-1-3 Glutathione peroxidase (GPx)	5
I-6-1-4 Glutathione reductase	6
I-6-2 Non- enzymatic antioxidants	6
I-6-2-1 Vitamin C	6
I-6-2-2 Vitamin E	6
I-6-2-3 Vitamin A... ..	6
I-6-2-4 β -Carotene	7
I-6-2-5 Polyphenols	7
I-6-2-5-1 Phenolic acids	7
I-6-2-5-2 Flavonoids.....	7
I-6-2-5-3 Tannins.....	8
a- Hydrolysable tannins	8

b- Condensed tannins.....	8
I-6-2-6 Glutathione	8
II- Inflammation.....	9
II-1 Definition.....	9
II-2 Inflammation Types.....	10
II-2-1 Acute inflammation.....	10
II-2-2 Chronic inflammation.....	11
II-3 Anti-inflammatory drugs	12
II-3-1 Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs).....	12
II-3-2 Glucocorticoids or steroidal anti-inflammatory medications (SAIDs).....	13
II-3-3 Plant-based anti-inflammatory drugs	13
III - The plant <i>S. tenacissima</i>	15
III-1 Description of <i>S.tenacissima</i>	15
III -2 Classification	16
III -3 Distribution by geography	16
III-4 Uses and chemical composition of <i>Stipa tenacissima</i>	17
IV -Materials and Methods.....	18
IV-1 Material	18
IV-1-1 Plant material	18
IV-1-2 Animal material	18
IV-2 Methods.....	18
IV-2-1 Preparation of the extract.....	18
IV-2-2 Determination of total phenolic content.....	18
IV-2-3 Determination of flavonoids content.....	19

IV-2-4 Anti-oxidant activity	20
IV-2-4-1 DPPH radical scavenging test.....	20
IV-2-4-2 Chelating activity on Iron	20
IV-2-5 Anti-inflammatory activity	21
IV-2-5-1 Determination of invitro	21
IV-2-5-2 Croton induced ear edema	21
IV-2-6 Statistical analysis.....	22
V-Results and discussion	23
V-1 Antioxidant activity	23
V-1-1 Determination of Total Phenolic Compounds.....	23
V-1-2 Determination of flavonoids content.....	24
V-1-3 DPPH scavenging activity.....	24
V-1-4 Ferrous ion chelating activity	26
V-2 Anti-inflammatory activity determination	27
V-2-1 BSA denaturation test	27
V-2-2 Croton oil induced ear edema	29
Conclusion	32

Abstract

Stipa tenacissima, commonly known as "Alfa" and belonging to the Poaceae family, is a perennial grass traditionally used in Algerian folk medicine and handicrafts. This plant is reputed for its therapeutic properties, particularly its antioxidant and anti-inflammatory activities. The present study aimed to evaluate these biological effects using both *in vitro* and *in vivo* approaches. The aqueous extract was evaluated for its total phenolic and flavonoid contents, which were found to be 97.02 mg GAE/g and 50.45 mg QE/g of extract, respectively. The antioxidant capacity was assessed using the DPPH radical scavenging assay and iron chelation test, revealing potent antioxidant activity with IC₅₀ values of 0.088 mg/mL and 2.279 mg/mL, respectively. Anti-inflammatory activity was demonstrated *in vitro* through BSA denaturation inhibition with percentage of 89.93% at 5 mg/mL, and *in vivo* using croton oil-induced ear edema in mice, where the extract showed a significant inhibition rate of 71.11% at a dose of 100 mg/kg. These results confirm the traditional use of *S. tenacissima* as a natural remedy, supporting its potential development as an anti-inflammatory and antioxidant agent.

Keywords: *Stipa tenacissima*, Alfa, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, phenolic compounds, DPPH, iron chelation

Résumé

Stipa tenacissima, communément appelée "Alfa" et appartenant à la famille des Poaceae, est une herbe vivace traditionnellement utilisée dans la médecine populaire algérienne et l'artisanat. Cette plante est réputée pour ses propriétés thérapeutiques, en particulier ses activités antioxydantes et anti-inflammatoires. La présente étude visait à évaluer ces effets biologiques en utilisant à la fois des approches in vitro et in vivo. L'extrait aqueux a été évalué pour ses teneurs totales en phénols et en flavonoïdes, qui se sont avérées être respectivement de 97,02 mg GAE/g et 50,45 mg QE/g d'extrait. La capacité antioxydante a été évaluée en utilisant le test de piégeage des radicaux DPPH et le test de chélation du fer, révélant une activité antioxydante puissante avec des valeurs d'IC₅₀ de 0,088 mg/mL et 2,279 mg/mL, respectivement. L'activité anti-inflammatoire a été démontrée in vitro par l'inhibition de la dénaturation de la BSA avec un pourcentage de 89,93 % à 5 mg/mL, et in vivo en utilisant l'œdème auriculaire induit par l'huile de croton chez les souris, où l'extrait a montré un taux d'inhibition significatif de 71,11 % à une dose de 100 mg/kg. Ces résultats confirment l'utilisation traditionnelle de *S. tenacissima* comme remède naturel, soutenant son développement potentiel en tant qu'agent anti-inflammatoire et antioxydant.

Mots-clés : *Stipa tenacissima*, Alfa, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, composés phénoliques, DPPH, chélatage du fer

الملخص

Stipa tenacissima المعروفة عادة باسم "الحفاء" والتي تنتمي إلى عائلة النجيليات هي عشب معمر يُستخدم تقليدياً في الطب الشعبي الجزائري والحرف اليدوية. تشتهر هذه النبتة بخصائصها العلاجية، وخاصة أنشطتها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم هذه التأثيرات البيولوجية باستخدام كل من الطرق في المختبر وفي الجسم الحي. تم تحليل المستخلص المائي لمحتواه من عديدات الفينولات والفلافونويدات الكلية، والتي قدرت بـ 97.02 ملغ مكافئ لحمض الغاليك/غ و 50.45 ملغ مكافئ للكرستين/غ من المستخلص، على التوالي. تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة باستخدام اختبار ازاحة الجذر DPPH واختبار استخلاص الحديد، مما كشف عن نشاط مضاد للأكسدة قوي بقيمة IC_{50} تبلغ 0.088 ملغ/مل و 2.279 ملغ/مل على التوالي. تم إثبات النشاط المضاد للالتهابات في المختبر من خلال تثبيط تنخريب BSA (89.93%) عند 5 ملغ/مل، وفي الجسم الحي باستخدام وئمة الأذن الناتجة عن زيت الكروتون عند الفئران، حيث أظهر المستخلص معدل تثبيط كبير بنسبة 71.11% عند جرعة 100 ملغ/كغ. تؤكد هذه النتائج الاستخدام التقليدي لنبت *S. tenacissima* كعلاج طبيعي، مما يدعم تطويره المحتمل كعامل مضاد للالتهابات ومضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Stipa tenacissima* ، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات، المركبات الفينولية، ، DPPH، استخلاص الحديد .

Introduction

Since antiquity, medicinal plants have played a fundamental role in both traditional and modern healthcare systems. Among them, species rich in phenolic compounds and flavonoids have attracted growing scientific interest due to their diverse biological properties, particularly their potent antioxidant and anti-inflammatory activities (Zhang *et al.*, 2023). These natural compounds are recognized for their ability to scavenge free radicals, modulate inflammatory pathways, and protect against cellular damage.

Oxidative stress arises from an imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and the efficiency of the body's antioxidant defense mechanisms. This imbalance is implicated in the pathophysiology of several chronic diseases, including cancer, cardiovascular disorders, type 2 diabetes, and neurodegenerative conditions (Liguori *et al.*, 2018., Rahman *et al.*, 2024). In parallel, inflammation as a defense mechanism can become harmful when it persists in a chronic state, contributing to the onset and progression of numerous pathologies (Ghosh *et al.*, 2023).

Although conventional anti-inflammatory therapies, such as non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and corticosteroids, remain the mainstay of treatment, their long-term use is often associated with significant side effects, including gastrointestinal disturbances, renal complications, and immunosuppression (Kalpesh *et al.*, 2019; Ali *et al.*, 2024). Consequently, the exploration of safer, plant-based alternatives has gained momentum, positioning medicinal plants as valuable sources of new therapeutic agents.

Stipa tenacissima L., commonly known as alfa, is a perennial herbaceous plant native to the Mediterranean basin. Traditionally used in the production of textiles and paper, this plant has recently garnered attention for its pharmacological potential. Recent phytochemical studies have revealed its richness in polyphenols, sterols, and terpenoids, molecules known for their health-promoting properties (El Hachimi *et al.*, 2021., Benali *et al.*, 2023). However, comprehensive scientific investigations into its therapeutic effects remain scarce.

The main objective of this study is to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory properties of the aqueous extract of *S. tenacissima* using both *in vitro* and *in vivo* models. Special emphasis is placed on elucidating the underlying mechanisms of action and comparing the plant's effects with standard pharmaceutical agents. This study contributes to the valorization of local plant resources and supports the development of natural therapeutic alternatives with fewer adverse effects.