

## VALORISATION PHYTOCHIMIQUE DE *CUPRESSUS SEMPERVIRENS* L. DE LA FORET DE TERNI (MONT DE TLEMCCEN)

BOUCIF Ouarda El Wahida<sup>1,2</sup>, BENHAMMOU-BELYAGOUBI Nabila,<sup>2</sup>

RACHED-KANOUNI Malika<sup>1</sup>, Rabah RAHAB<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des substances naturelles, biomolécules et applications biotechnologiques  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Faculté de Sciences Exactes et Sciences de la  
Nature et de la Vie, Université Larbi Ben M'Hidi, Oum El Bouaghi, Algérie.

<sup>2</sup>Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA), Département de Biologie, Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et d'Univers, Université de Tlemcen, Algérie.

### Résumé

Dans le cadre du développement durable et la valorisation des ressources naturelles (essences forestières), notre étude est focalisée sur la quantification des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés des extraits hydro-méthanoliques des aiguilles, des cônes et des graines de cyprès vert (*Cupressus sempervirens*) de la région de Terni (Monts de Tlemcen). L'évaluation du pouvoir antiradicalaire contre DPPH a été aussi envisagée. Les résultats ont montré des rendements importants de 18.78 % pour les extraits des cônes. L'extrait des graines a révélé une teneur élevée en phénols totaux de l'ordre de 546,48±2,52 mg équivalent d'acide gallique (EAG)/g d'Extrait Sec (ES) et des teneurs élevées en flavonoïdes (155,67±4,96 mg équivalents de quercétine/g ES) et en tanins condensés (53,36±6,6 mg équivalents de catéchine/g ES) par rapport aux extraits des aiguilles et des cônes. Concernant le pouvoir antioxydant, les trois extraits détiennent une forte activité antiradicalaire à 4 mg/ml dont les pourcentages d'inhibition sont de 96,31±0,47 % pour l'extrait des aiguilles, 96,25±0,21% pour l'extrait des graines et 93,16±0,1 % pour l'extrait des cônes. Ces données constituent une source naturelle des agents antioxydants qui restent à les exploiter pour une future utilisation dans les domaines d'agro-alimentaire et de santé.

**Mots clés :** *Cupressus sempervirens*, flavonoïdes, antioxydant, Mont de Tlemcen.

### Abstract

In the context of sustainable development and enhancement of natural resources (forest species), our study focused on the quantification of the contents of total phenols, flavonoids and condensed tannins of hydro-methanolic extracts of needles, cones and seeds of green cypress (*Cupressus sempervirens*) from the Terni Mont Tlemcen region. The evaluation of the antiradical power against DPPH was also considered. The results showed significant yields of 18.78% for the cone extract. The seed extract revealed a high content of total phenols in the order of 546.48±2.52 mg equivalent of gallic acid (GAE/g of dry extract (SE) and high contents of flavonoids (155.67±4.96 mg quercetin equivalents/g ES) and in condensed tannins (53.36±6.6 mg catechin equivalents/g ES) compared to the needle and cone extracts. Regarding the antioxidant power, the three extracts have a strong anti-free radical activity at 4 mg/ml, the inhibition percentages of which are 96.31±0.47% for the needle extract, 96.25±0.21% for the seed extract and 93.16±0.1% for the cone extract. These data constitute a natural source of antioxidant agents which remain to be exploited for future use in the fields of food and health.

**Key words:** *Cupressus sempervirens*, flavonoids, antioxidant, Mont Tlemcen.

Auteur correspondant: [fatibiosnv@gmail.com](mailto:fatibiosnv@gmail.com)

## INTRODUCTION

Les plantes médicinales sont un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de substances actives. Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydants d'origine naturelle. Les poly phénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé [1]. Ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [2]. La structure des phénols végétaux, leur confère une activité antioxydant aussi importante que celles des vitamines C et E [3]. Notre travail vise à faire une étude phytochimique et l'activité antioxydante des extraits de *Cupressus sempervirens* de la wilaya de Tlemcen (forêt domaniale Terni).

*Cupressus*, le Cyprès est un genre d'arbres sempervirents [4] de la famille des Cupressaceae, originaires des régions tempérées chaudes de l'hémisphère nord. Le cyprès commun *Cupressus sempervirens* est un grand arbre étroit au port colonnaire et au feuillage persistant, typique des régions méditerranéennes. Répandu autour du bassin méditerranéen et au Moyen-Orient, le cyprès tire son nom, *Cupressus* de *Cyprus*, qui indiquerait une supposée origine chypriote. *Sempervirent* se traduit par « toujours vert », ce qui témoigne bien

de son feuillage persistant. Certains auteurs décrivent l'aire de distribution comme une aire continue allant du nord de la Libye au sud de la mer caspienne, englobant la crête et les îles grecques, le sud de Turquie et une partie de la Grèce. Cette essence fut également introduite dans de nombreux autres pays dans le monde jusqu'en Afrique, Nouvelle Zélande, l'Australie et le Japon [5], en Algérie [6].

La grande polyvalence thérapeutique du cyprès s'exprime surtout à travers son huile essentielle. Elle a vertu de régulariser la circulation, d'atténuer la toux, d'aider à réduire la cellulite, de limiter la transpiration, de décontracter les muscles, d'agir sur le zona et l'herpès. C'est également un bon rééquilibrant général et tout particulièrement du système nerveux [7].

Le cyprès est une plante médicinale et également ornementale. Elle jouit d'une grande faveur populaire en Algérie et au Maroc comme remède contre la toux. Pour cela, nous sommes intéressés à l'étude de l'espèce *Cupressus sempervirens* qui pousse dans la région de Tlemcen, en particulier dans les montagnes (forêt domaniale Terni). Cette étude s'intègre dans le contexte plus global de la mise en valeur de la biodiversité des plantes algériennes pour leurs propriétés tant médicinales qu'alimentaires.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel végétal

L'espèce *Cupressus sempervirens* a été identifiée par le professeur Benabadji N. (2022) du laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen.

### Préparation de la poudre végétale

Les trois parties aériennes (A) aiguilles, (B) cônes et (C) graines ont été récoltées au printemps (2022) selon un prélèvement au hasard (Photo 1), ils ont été nettoyés puis séchés dans un endroit sec, aéré et à l'abri de la lumière [8].

Après séchage, les échantillons ont été broyés. Puis passés au tamis afin d'avoir une poudre homogène.



**Aiguilles(A) Cônes(B) Graines(C)**

**Photo1. (Boucif, 2022)**

La poudre obtenue a été mise dans des piluliers en verre et conservées jusqu'à extraction.

### Extraction des métabolites secondaires

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des polyphénols. La méthode la plus efficace qui a été choisie dans cette étude est l'extraction solide-liquide en utilisant l'extraction à froid ou macération [9].

Un échantillon de 1g de chaque partie sèche est soumis à macération dans 10ml de Méthanol/eau (8:2v/v) pendant 24 heures à température ambiante et à l'obscurité, l'extrait hydrométhanolique obtenu est filtré sur papier filtre, puis concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à 45°C.

### Le rendement

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par [10].

$$R(\%) = 100 * (M_{ext} / M_{éch})$$

R : le rendement en (%).

$M_{ext}$  : la masse de l'extrait après évaporation en mg.

$M_{éch}$  : la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

## **Etude quantitative**

### **- Dosages des phénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu[11]. Une prise de 200 µL de l'extrait dilué a été introduite dans des tubes à essais, puis 1000 µL du réactif du Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 800 µL de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7,5% sont additionnés. Les tubes sont agités et conservés durant 30 min à l'abri de la lumière et à une température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECTROTD 200 Plus. Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif afin d'exprimer les teneurs en milligramme (mg) équivalents d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG /g MS).

### **- Dosage des flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes est déterminé en utilisant la technique[12]. Une quantité de 500 µL de l'extrait dilué est mélangée avec 1500 µL d'eau distillée, suivi par 150µL de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 5%. Après 5 min, 150µL de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10 % est ajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500µL d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) à 4% est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance est déterminée à 510 nm contre le blanc à l'aide d'un

spectrophotomètre SPECTROD 200 Plus. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

### **- Dosage des tanins condensés**

La quantité des tanins condensés est déterminée par la méthode de vanilline en milieu acide [13]. Cette méthode est basée sur la capacité de vanilline en présence d'HCl à réagir avec les tanins, l'absorbance est mesurée à 550 nm. Un volume de 50 µL de l'extrait dilué est ajouté à 1500 µL de la solution vanilline/méthanol (4%) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µL de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECTROD 200 Plus. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalents de la catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

### **- Evaluation de l'activité antioxydante**

L'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée selon la méthode du DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl). Un volume de 50 µl

de différentes concentrations (0,0625-0,125- 0,25- 0,5-1 mg/ml) de l'extrait est ajouté à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée. Après incubation à l'abri de la lumière pendant 30 min et à la température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec

1950 µl de la solution méthanoïque du DPPH à la même concentration utilisée. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif. Les pourcentages d'inhibition (%) du radical DPPH sont calculés à partir de la formule suivante :

$$(I \%) = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

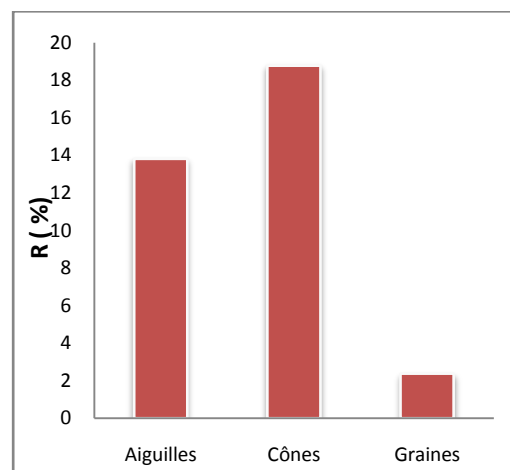
Où : AC : représente l'absorbance du contrôle négatif ; AE: représente l'absorbance de l'échantillon.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### Le rendement

Les résultats de rendement d'extraction des composés phénoliques dans les différents extraits des organes de cyprès vert sont illustrés dans la figure 1. Les résultats ont montré des rendements qui varient entre 2,37 et de 18,78 % dont le meilleur rendement est enregistré dans l'extrait des cônes (18,78%). Ce rendement d'extraction de la plante étudiée peut être attribué à plusieurs facteurs, notamment l'âge de la plante, la période de la récolte des échantillons, les conditions climatiques et environnementales [14].

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes ainsi qu'en tannins condensés des extraits obtenus sont récapitulés dans le tableau 1.



**Fig.1** –le rendement d'extraction des composés phénoliques dans les différents extraits des organes du cyprès vert.

**Tableau1:**Teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins condensés des extraits obtenus des différents organes du cyprès vert.

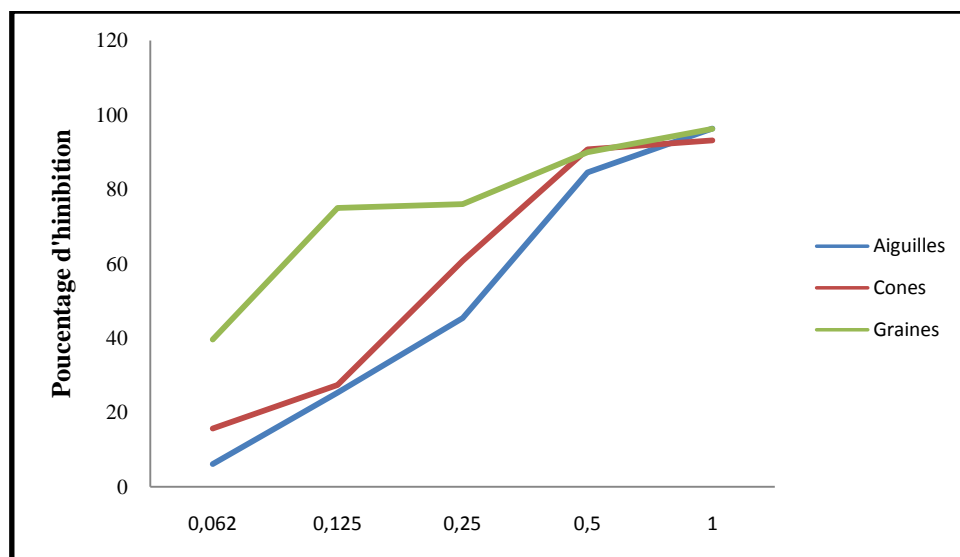
Extrait méthanolique	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	Tannins condensés
Aiguilles	374,50±1,94	61,32±0,74	47,93±3,99
Cônes	374,50±1,37	108,88±4,33	32,70±4,40
Graines	546,48±2,52	155,67±4,96	53,36±0,60

La quantification des composés phénoliques a montré que les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins condensés varient entre les organes et que l'extrait méthanolique des graines montre la plus forte concentration en polyphénols totaux (546,48 mg EAG/g MS), en flavonoïdes (155,67 mg EAG/g MS) et en tannins condensés (53,36 mg EAG/g MS) par rapport aux extraits des aiguilles et cônes. Les polyphénols sont généralement trouvés dans les plantes comestibles et non comestibles, et ils ont été signalés à avoir des effets biologiques multiples, y compris l'activité antioxydante [15].

Les flavonoïdes appartiennent à la classe des métabolites secondaires végétaux. Ces composés possèdent un large spectre d'activités chimique et

biologiques, y compris des propriétés anti-radicalaires. Les flavonoïdes et les composés phénoliques (FCP) non pariétaux sont largement présents dans les fruits et les légumes. Ils constituent un apport de micronutriments intéressants pour leurs effets bénéfiques sur la santé de l'homme [16].

L'activité antioxydante des extraits des aiguilles, cônes et graines de *Cupressus sempervirens* L. a été évaluée in vitro par le test de DPPH et le résultat a été exprimé en termes de pourcentage de réduction de DPPH. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 2 qui illustre l'efficacité des extraits des organes (aiguilles, cônes et graines) de piéger le radical DPPH, traduit par le taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations.



**Fig. 2-** Activité antiradicalaire des extraits de *Cupressus sempervirens*L.

A travers ces résultats le pouvoir antioxydant, des trois extraits détiennent une forte activité antiradicalaire à 4 mg/ml dont les pourcentages d'inhibition sont de  $96,31 \pm 0,47$  % pour l'extrait des aiguilles,  $96,25 \pm 0,21$  % pour l'extrait des graines et  $93,16 \pm 0,1$  % pour l'extrait des cônes. Les polyphénols et

les flavonoïdes jouent un rôle important dans la défense contre les radicaux libres [17] et ils sont considérés parmi les antioxydants les plus puissants. D'après ces résultats, le cyprès constitue une source naturelle des agents antioxydants.

## CONCLUSION

La présente étude s'est proposé de réaliser la quantification de composés polyphénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) par spectrophotométrie des extraits hydro-méthanoliques des aiguilles, des cônes et des graines de Cyprès (*Cupressus sempervirens*) de la famille des Cupressacées de la région de Terni Mont de Tlemcen. Cette plante de la flore algérienne utilisée dans le traitement thérapeutique. L'activité antioxydante de ces extraits évaluée in vitro par le test DPPH a montré que

tous les organes de cyprès étudié se caractérisent par un fort pouvoir antioxydant. Les résultats obtenus nous permettent de déduire que le cyprès constitue une source naturelle des agents antioxydants qui restent à les exploiter pour une future utilisation dans les domaines d'agro-alimentaire et de santé.

## Références

- [1] Koechlin-Ramonatxo C.: Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolique*; 2006; 20: 165- 177.
- [2] Suhaj M.: Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*; 2006; 19: 531–537.
- [3] Rice-Evans C., Miller N., Paganga G.: Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* ; 1997, 2(4): 152-159. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01018-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01018-2).
- [4] 1753 Publication de *Species plantarum*, ouvrage qui recense et classe quelque 8 000 plantes du monde entier.
- [5] Tabala M.: Distribution and host range of *seiridiumunicorne* in Japan, *Transaction of the mycological society of Japan*; 1991; 32:259-264.
- [6] Kadik : Les espèces végétales sahariennes élément essentiel du développement en milieu désertique. Séminaire sur les zones désertiques, Tamanrasset ; 1987.
- [7] Ghedira K. : Les flavonoïdes, structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* ; 2005 ; 3(4): 162-169.
- [8] Cecchini T.: *Encyclopédie des Plantes médicinales*. Ed. De Vecchi S.A. Paris ; 2003 ; 351p.
- [9] Penchev P.I. : *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions*. Thèse de doctorat en Génie des Procédés et de l'Environnement. Université de Toulouse, France ; 2010 ; 239p.
- [10] Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C.: Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities, *CR Biologies*, 331. 2008, 372-379.
- [11] Singleton V.L. et al.: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*; 1999; 299: 152-178.
- [12] Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W.: The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*; 1999; 64: 555-559.
- [13] Julkunen-Titto R.: Phenolic constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food chemistry*; 1985, (33): 213.
- [14] Ebrahimi M., Rajion M.A., Goh Y.M., Sazili A.Q.: Carcass quality of Malaysian Kacang crossbred goats fed diets supplemented with oil palm fronds. In: Proceedings the 29<sup>th</sup> Malaysian Society for Animal Production (MSAP)



Annual Conference; 25-27 May,2008; Penang,Malaysia; 2008 : p.116-118.[15] Kim D., Jeond S., Lee Ch.: Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem*; 2003; 81: 321-326.

[16] Basalan M., Gungor T., Owens F.N., Yalcinkaya I: Nutrient content and in vitro digestibility of Turkish

grape pomaces.*Animal. feed Science and Technology*; 2011 Volume 169, Issues 3-4, 194-198.

[17] Govindarajan R.,Vijayakumar M., Pushpangadan P.: Antioxydant approach to discase management and the role of Rasayana herbs of Ayurveda. *Journal Ethopharmacol.* Jun, 2006, 3; 99(2) :165-78. Epub 2005 April 26.