

# Application de la technologie des fluides supercritiques pour la formulation de dispersions solides amorphes de flavonoïdes

## 1. Description du sujet de thèse

### ➤ Contexte

Les flavonoïdes présentent plusieurs propriétés bénéfiques biologiques et antioxydantes. Ils constituent une famille de plus de 5000 molécules. Ils sont présents dans la plupart des produits végétaux, y compris dans les coproduits de l'industrie agro-alimentaire. Les flavonoïdes sont des substances naturelles qui offrent un large éventail d'utilisations, y compris la biotechnologie, les nutraceutiques et le développement de nouveaux composés bioactifs, de co-médicaments, de chimio-protecteurs et de plantes médicinales. Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes qui diffèrent par le degré de saturation de l'hétérocycle aglycone, son oxydation et sa conformation spatiale. Parmi ces classes, on retrouve les flavanols, les anthocyanidines et les flavonols. Il a été rapporté que ces derniers ont plusieurs effets potentiellement bénéfiques sur la santé, notamment des activités antioxydantes et anti-cancérigènes. Récemment, la quercétine, un composé majeur du bioflavonoïde polyphénolique, a été signalée comme présentant des effets antiviraux lorsqu'elle est administrée avec de la vitamine C, ce qui peut contribuer à soulager certains symptômes associés au COVID-19. Cependant, la plupart de ces molécules présente une faible solubilité dans les milieux aqueux et une biodisponibilité limitée dans le tractus gastro-intestinal après leur hydrolyse, ce qui limite l'exploitation de leurs propriétés bénéfiques dans le domaine alimentaire et nutraceutique. Afin d'améliorer la dissolution des molécules peu hydrosolubles, diverses méthodes et efforts ont été déployés, comme l'encapsulation ou encore la formulation en dispersion solide en utilisant différentes techniques (extrusion à chaud, séchage par atomisation...). Cependant, les méthodes classiques présentent certaines limitations liées à la température élevée du procédé qui affecte les propriétés des molécules bioactives thermosensibles ou à l'utilisation des solvants organiques, qui peut avoir un impact sur la toxicité du produit final en termes du solvant résiduel.

### ➤ Objectif & approche scientifique

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse est d'étudier le potentiel de **l'utilisation des fluides supercritiques, tels que le CO<sub>2</sub>, comme technique alternative pour l'élaboration de dispersions solides amorphes de flavonoïdes peu hydrosolubles** (quercétine, rutine...). En effet, en état supercritique, le CO<sub>2</sub> constitue un solvant vert ayant un pouvoir solvant ajustable/modulable dans une gamme de pression et température aisément exploitable industriellement et compatible avec des composés thermosensibles. Cela lui confère des propriétés particulières : une faible viscosité dynamique proche de celle des gaz, une masse volumique élevée équivalente à celle des liquides, et un coefficient de diffusivité intermédiaire à celui des liquides et des gaz. Dans ces conditions, il est capable de plastifier les polymères. En interagissant avec les chaînes polymères, il diminue la température de transition vitreuse des polymères amorphes et la température de fusion des polymères cristallins, et permet ainsi de solubiliser et disperser des petites molécules hydrophobes. **Le procédé de formulation utilisant le CO<sub>2</sub> supercritique présente donc un intérêt pour la préparation et la conception des dispersions solides, à basse température sans utilisation des solvants organiques, tout en préservant les propriétés potentielles des molécules bioactives et en respectant l'homme et l'environnement.**

Dans le cadre de cette thèse, les travaux seront alors développés selon trois tâches :

1-Mise en œuvre et l'optimisation du procédé d'élaboration de dispersions solides amorphes par CO<sub>2</sub> supercritique (partie réalisée à l'UTC-TIMR et co-encadrée par M. Benali & Denis Luart) : Deux procédés sont envisagés : l'un en mode batch, et un autre en flux continu. L'étude de l'effet de la pression, la température, du ratio composé actif/matrice polymère et de la durée de l'opération ou temps du séjour sur les propriétés physico-chimique et la stabilité physique des dispersions solides amorphes, sera menée selon la méthodologie des plans d'expériences. Les dispersions solides obtenues seront comparées à celles issues de procédés plus conventionnels tels que le mélange à l'état fondu et l'encapsulation par atomisation. Une attention toute particulière sera portée sur la cinétique de libération du composé actif et l'activité anti-radicalaire, in vitro, des dispersions solides amorphes élaborées. La cinétique de libération sera suivie par les techniques classiques (spectroscopie UV, HPLC) mais aussi de nouvelles techniques plus robustes (électrophorèse capillaire).

2-Choix de la matrice polymère (partie réalisée à SU-IPCM et encadrée par P. Castignolles) : Le polymère sera choisi selon un certain nombre de critères : bio-sourcé, interactions potentielles avec les flavonoïdes, non-toxique y compris par ingestion orale. Un certain nombre de polysaccharides, spécialement le chitosane, sont des candidats intéressants. Le chitosane respecte tous les critères, et les interactions avec les flavonoïdes peuvent être ajustées par la composition

chimique du chitosane, plus connu pour le nom de degré d'acétylation. Différents chitosane avec différents degrés d'acétylation moyens et différentes distributions de degré d'acétylation seront sélectionnés et comparés. La solubilité moléculaire et macromoléculaire de ces chitosanes sera comparée avant et après dispersion avec le CO<sub>2</sub> par spectroscopie RMN en solution et électrophorèse capillaire respectivement. La taille des particules de chitosane sera mesurée par les méthodes conventionnelles (MEB, DLS) et de plus nouvelles et complémentaires (Analyse de la Dispersion de Taylor). La surface des particules, le potentiel  $\zeta$  et la distribution de potentiels  $\zeta$  des particules seront déterminés par électrophorèse capillaire.

3-Détermination des interactions composé bioactif -matrices polymères et caractérisation des dispersions solides (partie réalisée à l'UTC-TIMR et encadrée par M. Benali) : Cette partie sera réalisée à l'aide des modèles théoriques (Flory-Huggins) et de méthodes d'analyse expérimentales (FTIR, XRD et DSC...). Cette étape aura pour but d'étudier l'effet de la nature de la matrice sur les interactions flavonoïde-matrice, sur la miscibilité et sur l'état amorphe/moléculaire du composé bioactif dans la dispersion solide. En effet, pour obtenir une dispersion solide contenant le soluté ou composé bioactif hydrophobe dans un état amorphe stable, les deux composants doivent être thermodynamiquement miscibles au cours du procédé de formulation ; idéalement, cette miscibilité doit être maintenue dans les conditions de stockage. Les conditions particulières de température et de pression rencontrées au cours du procédé par CO<sub>2</sub> supercritique seront également prises en compte dans la modélisation.

## 2. Partenaires du projet

Le projet de recherche réunit des compétences scientifiques de disciplines diverses : génie des procédés, Chimie en flux continu, technologies d'élaboration et de mise en forme des solides divisés et chimie des polymères. Deux établissements de recherche de l'alliance (UTC et SU) sont engagés dans la direction et l'encadrement de cette thèse :

Université de Technologie de Compiègne, Unité de Recherche TIMR. L'unité mixte de recherche Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable (TIMR UTC-ESCOM) a pour objectifs de développer, valider et mettre en œuvre les connaissances et savoir-faire destinés aux procédés et réactions de transformation de la matière renouvelable. Ses activités de recherche s'insèrent dans les problématiques scientifiques et technologiques, ainsi que dans les enjeux sociétaux actuels liés à l'optimisation de l'usage des ressources et au renouvellement des procédés industriels, en lien avec une démarche de développement durable.

Sorbonne Université, IPCM. L'équipe de Chimie des Polymères, de l'Institut Parisien de Chimie Moléculaire, regroupe environ 20 chercheurs, enseignants-chercheurs et personnels techniques et 30 doctorants, post-doctorants et stagiaires de Master qui travaillent à la compréhension et à la maîtrise des processus de polymérisation et de modification chimique des polymères afin d'élaborer des matériaux macromoléculaires à structure, architecture, et propriétés contrôlées. Cela inclut des polymérisations à faible impact écologique mais aussi la modification chimique de polymères naturels, tels lignines ou des polysaccharides comme le chitosane, l'amidon ou la cellulose.

## 3. Profil du candidat recherché pour la thèse

Master 2, élève ingénieur ou équivalent spécialisé en sciences des aliments, en physico-chimie et/ou en génie des procédés

## 4. Quelques publications des partenaires en lien avec le sujet de la thèse

- Solid dispersions of quercetin-PEG matrices: Miscibility prediction, preparation and characterization. Elisabeth Van Hecke, **Mohammed Benali**. *Food Bioscience*, Volume 49, **2022**, 101868, 2212-4292. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101868>
- Metal-Free Reduction of Nitrobenzene to Aniline in Subcritical Water. Sarra Tadrent, **Denis Luart**, Olivier Bals, Anissa Khelfa, Rafael Luque and Christophe Len. *Org. Chem.* **2018**, 83, 14, 7431–7437. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b00406>
- Glycerol in subcritical and supercritical solvents. Nicolas Galy, Rémi Nguyen, Hasret Yalgin, Nicolas Thiebault, **Denis Luart**, Christophe Len. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **2017**, 92, 1, 14-26. <https://doi.org/10.1002/jctb.5101>
- Determination of the distributions of degrees of acetylation of chitosan. Joel Jerushan Thevarajah, Matthew Paul Van Leeuwen, Herve Cottet, **Patrice Castignolles**, Marianne Gaborieau. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2017**, 95, 40-48. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.056>
- Quantifying the Heterogeneity of Chemical Structures in Complex Charged Polymers through the Dispersity of Their Distributions of Electrophoretic Mobilities or of Compositions. Joel J. Thevarajah, Adam T. Sutton, Alison R. Maniego, Elizabeth G. Whitty, Simon Harrison, Hervé Cottet, **Patrice Castignolles**, and Marianne Gaborieau. *Analytical Chemistry*, **2016**, 88 (3), 1674-1681. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b03672>