

## Design et synthèse de composés amphiphiles xylo-sourcés originaux pour l'obtention d'ingrédients fonctionnels anti-oxydants et anti-prolifératifs

EID Georges<sup>1,2</sup>, VIROT-HUMEAU Catherine<sup>2</sup>, CHEBIL Latifa<sup>2</sup>, GERARDIN-CHARBONNIER Christine<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur le Matériau Bois (LERMAB), EA 4370 – USC INRA, Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Technologies, BP 70239 Vandœuvre-lès-Nancy cedex, France

<sup>2</sup>Laboratoire Réactions et Génie des Procédés (LRGP), CNRS UMR 7274, Université de Lorraine, ENSAIA, BP 20163, 54505 Vandœuvre-lès-Nancy cedex, France  
[georges.eid@univ-lorraine.fr](mailto:georges.eid@univ-lorraine.fr)

**Mots clefs :** Polyphénols ; extractibles du bois ; modification chimique ; catalyse enzymatique ; acylation ; auto-assemblage ; antioxydant ; modélisation moléculaire

### Contexte et objectifs

La diminution des ressources pétrochimiques, facilement accessibles, suscite, depuis ces dix dernières années, un intérêt croissant pour l'utilisation de matières premières d'origine renouvelable. La chimie bio-sourcée s'est tout d'abord fortement développée autour des agro-ressources annuelles ; elle se tourne également de plus en plus vers l'utilisation de la biomasse ligno-cellulosique issue du bois car celle-ci constitue une source de carbone renouvelable particulièrement abondante sur terre et dont l'utilisation n'entre pas en compétition avec les ressources alimentaires. L'industrie de première transformation du bois génère chaque année des volumes importants de déchets qui sont à l'heure actuelle, soit recyclés vers d'autres filières comme la papeterie ou l'industrie des panneaux, soit utilisés comme source d'énergie, et donc vers des marchés de faible valeur ajoutée. Le projet se situe dans ce contexte de développement durable et de valorisation des co-produits de l'industrie du bois par l'exploitation des métabolites secondaires présents dans le bois, comme les composés phénoliques, et plus précisément les flavonoïdes (Wijayanto, 2015) qui présentent en effet un intérêt pour leurs activités biologiques (Li, 2019).

Pour valoriser ces composés, leur structure a été modifiée par deux voies : chimique et/ou enzymatique (Saik, 2017) pour former des composés bi- et tri-modulaires. Pour les composés bi-modulaires, des acides gras de différentes longueurs de chaînes ont été greffés sur le flavonoïde, la catéchine (fig.1), alors que pour les composés tri-modulaires, des acides aminés ainsi que des acides gras ont été greffés. Trois structures différentes de tri-modules ont été synthétisées afin d'obtenir différents types de vecteurs. L'objectif de ces modifications est, d'une part d'exacerber leurs activités biologiques par la modulation de leur balance hydrophile / hydrophobe, pour faciliter leur passage à travers les barrières biologiques et d'autre part, de faciliter leur formulation en leur apportant des propriétés d'auto-assemblage.

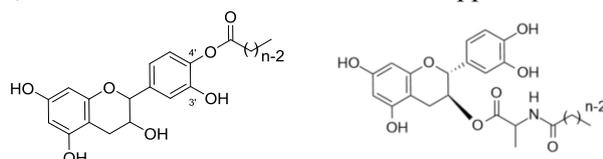


Fig. 1 : Composés bi- et tri-modulaires

## Matériel et méthode

### Hemisynthese chimique

Les modifications chimiques sont réalisées sur la catéchine choisie comme polyphénol modèle. La synthèse du bi-module et du tri-module se fait par estérification en présence de DCCI (1 eq) et du DMAP (1 eq) pendant 20 heures. Pour les tri-modules avant l'estérification, l'acide aminé protégé est couplé à l'acide gras par amidation et ce couple est saponifié par la suite pour déprotéger et obtenir un acide carboxylique. La catéchine est protégée par benzylolation pour cibler le OH aliphatique. Une fois c'est deux étapes réalisées, l'estérification aura lieu. Une hydrogénation catalytique a lieu afin de déprotéger le produit.

La purification des produits se fait par chromatographie sur gel de silice et leur caractérisation est réalisée par RMN et Infra Rouge.

### Biocatalyse

Une réaction d'acylation est réalisée entre deux flavonoïdes glycosylés, la rutine et la naringine, et des acides gras de différentes longueurs des chaînes avec un ratio molaire 1 :5, flavonoïde : acide gras dans le 2-méthyle-2-butanole. L'enzyme utilisé est la CAL-B, séchée préalablement. La réaction se fait à 100° en présence de tamis moléculaires. Une étude cinétique est réalisée par HPLC. La purification des produits se fait par chromatographie semi-préparative en colonne inverse et la caractérisation se fait par RMN et Infra Rouge.

## Résultats et discussion

### Hemisynthese chimique

La synthèse du bi-module se fait en une étape, estérification, où une chaîne grasse est greffée sur les groupements hydroxyles phénoliques du groupement catéchol du flavonoïde.

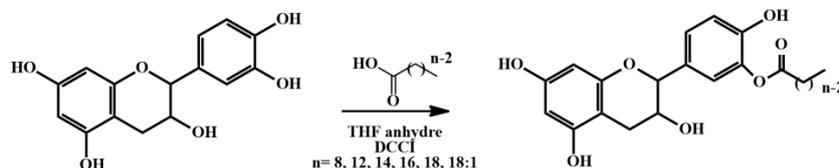


Fig. 1 : Composé bi-modulaire

Cette synthèse nous permet d'obtenir un mono-ester avec des rendements entre 56 et 69%, ainsi l'obtention de faibles traces de di-ester.

Afin de comprendre la régiosélectivité de cette réaction, la réactivité de chaque groupement hydroxyle a été étudiée par modélisation moléculaire, DFT, à l'aide de la fonctionnelle B3Lyp en éliminant un proton des OH en différentes positions. La différence entre la HOMO et la LUMO, peut servir à mesurer l'excitabilité de la molécule : plus la différence d'énergie est faible, plus la molécule peut être excitée facilement, et donc plus réactive.

Tab. 1 : Valeurs des énergies des orbitales de LUMO, HOMO de la catéchine et de la catéchine après arrachement de protons dans les positions 3', 4', 3, 5 et 7

	$E_{\text{HOMO}}$ (Ha)	$E_{\text{LUMO}}$ (Ha)	$E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}$ (Ha)
<b>Catéchine</b>	-0.188	-0.036	0.152
<b>Catéchine 3' – OH</b>	-0.193	-0.175	0.018
<b>Catéchine 4' – OH</b>	-0.191	-0.177	0.014
<b>Catéchine 3 – OH</b>	-0.192	-0.173	0.019
<b>Catéchine 5 – OH</b>	-0.196	-0.166	0.03
<b>Catéchine 7 - OH</b>	-0.194	-0.163	0.031

Les valeurs du tableau montrent que le groupement OH en position 4' est le plus réactif, suivi des positions 3', 3, 5 et enfin 7. Ce qui explique l'acylation directe sur la position 4'.

Plusieurs voies de synthèse sont envisagées pour obtenir les composés tri-modulaires. Trois acides aminés ont été utilisés, l'alanine, l'acide glutamique et la lysine afin d'obtenir 3 séries de molécules différentes. Avec l'alanine on obtient une structure basique avec une seule tête polaire, la catéchine, et une seule queue hydrophile, l'acide gras. En revanche avec l'acide glutamique on a deux têtes polaires, à cause de la présence de deux acides carboxyliques, et une seule queue hydrophobe. Finalement avec la lysine qui a deux groupements amides, on obtient deux queues hydrophobes et une seule tête hydrophile.

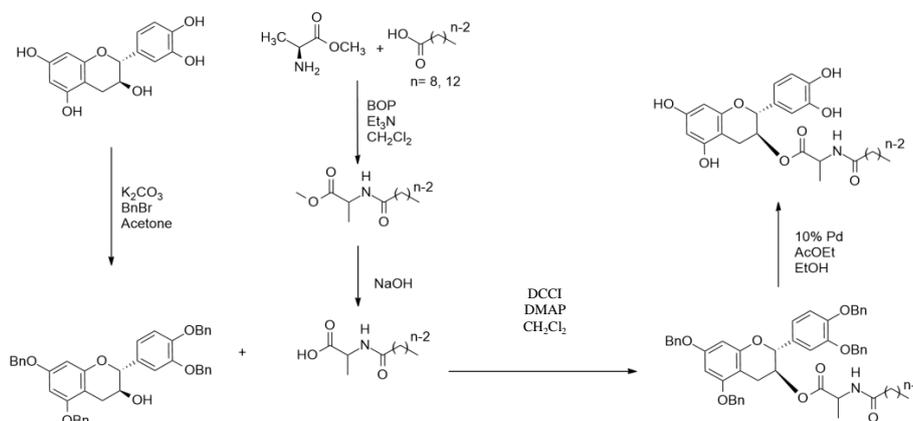


Fig. 2 : Les voies de synthèse pour les composés tri-modulaires

Le pouvoir antioxydant des produits à tester est mesuré en étudiant leur réactivité avec le DPPH. Les tests ont été effectués avec les bi-modules suivants : catéchine-C12, catéchine-C14 et catéchine-C16.

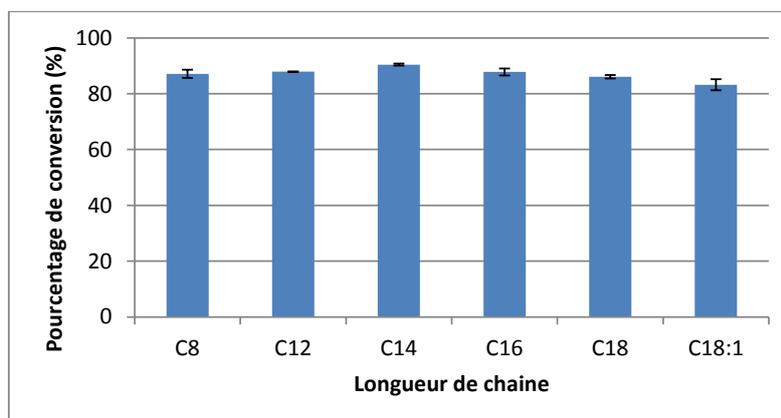
Tab. 2 : Comparaison des propriétés antioxydantes de la catéchine et de ses bi-modules contre le DPPH

Composés antioxydants	IC50 (g/L <sup>-1</sup> )
Catéchine	2.10 <sup>-2</sup> g/L <sup>-1</sup>
Catéchine – C12	2,9.10 <sup>-2</sup> g/L <sup>-1</sup>

Catéchine – C14	$2,9 \cdot 10^{-2} \text{ g/L}^{-1}$
Catéchine – C16	$2,5 \cdot 10^{-2} \text{ g/L}^{-1}$

### Biocatalyse

L'acylation de la naringine et de la rutine avec les acides gras suivants : C8 – C12 – C14 – C16 – C18 et C18 :1 en présence de CAL-B a permis d'obtenir des esters de flavonoïde avec des taux de conversion élevés. Ce taux de conversion augmente avec l'augmentation de la longueur des chaînes pour atteindre un maximum avec l'acide myristique (C14). Au-delà de cette longueur ce rendement diminue.



Histogramme 3. Variation du taux de conversion de l'acylation de la naringine en fonction de la longueur de la chaîne carbonnée.

### Conclusion et perspectives

L'acylation de la catéchine par hémisynthèse chimique a permis d'obtenir des composés bi- et tri-modulaires originaux avec des propriétés antioxydantes proches à celle de la catéchine. La biocatalyse a abouti à la formation d'esters de flavonoïde avec des taux élevés de conversion.

La tension superficielle est à tester pour les composés tri-modulaire ainsi que leur capacité à former des liposomes et des vésicules.

### Références

Li M., Fokkink R., Ni Y., Mieke Kleijn J. M. (2019) Bovine beta-casein micelles as delivery systems for hydrophobic flavonoids, *Food Hydrocolloids*, 96, 653-662.

Saik A. Y. H., Lim Y. Y., Choo W. S., Stanslas J. (2017) Enzymatic synthesis of quercetin oleate esters using *Candida Antarctica* lipase B, *Biotechnology Letter*, 39, 297-304.

Wijayanto A., Dumarçay S., Gérardin-Charbonnier C., Sari R. K., Syafii W., Gérardin P. (2015) Phenolic and lipophilic extractives in *Pinus merkusii* Jungh. et de Vries knots and stemwood, *Industrial Crops and Products*, 69, 466-471.