



HAL
open science

Développement d'une approche multi-échelle pour l'étude de la solubilité des flavonoïdes et leur assemblage avec les polymères

Manel Slimane

► To cite this version:

Manel Slimane. Développement d'une approche multi-échelle pour l'étude de la solubilité des flavonoïdes et leur assemblage avec les polymères. Ingénierie des aliments. Université de Lorraine, 2017. Français. NNT : 2017LORR0347 . tel-01917032

HAL Id: tel-01917032

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01917032>

Submitted on 8 Apr 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Ecole doctorale Ressources Procédés Produits Environnement (RP2E)
École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA)
Laboratoire Réactions et Génie des Procédés (LRGP)

THESE

Présentée à l'Université de Lorraine par

Manel SLIMANE

En vue d'obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Spécialité : Procédés Biotechnologiques et alimentaires

Développement d'une approche multi-échelle pour l'étude de la solubilité des flavonoïdes et leur assemblage avec les polymères

Soutenance publique prévue le 15 décembre 2017

Membres du jury

Rapporteurs :

Christian SANCHEZ	Professeur, Université de Montpellier, Montpellier
Elaine Rose MAIA	Professeur, Université de Brasilia, Brasilia

Examineurs :

Aude CORDIN	Maître de conférences, Université de technologie de Compiègne, Compiègne
Mohamed GHOUL	Professeur, Université de Lorraine - LRGP, Nancy
Latifa CHEBIL	Maître de conférences, Université de Lorraine - LRGP, Nancy

Remerciements

Au terme de cette thèse, qu'il me soit permis d'exprimer mes sentiments de gratitude aux différentes personnes qui m'ont encadré et soutenu tout au long de ces années rendant ainsi possible l'accomplissement du présent projet.

*Je tiens tout particulièrement à exprimer ma profonde gratitude et respect à mon directeur de thèse **Mr Mohamed GHOU** qui m'a encadré, soutenu, conseillé et encouragé tout au long de ces années de thèse. J'ai beaucoup appris de ses connaissances, sa clairvoyance et sa rigueur scientifique. Merci de m'avoir fait confiance malgré les connaissances plutôt légères que j'avais en modélisation moléculaire au tout début de ce projet.*

*Mes remerciements les plus sincères et ma profonde gratitude s'adressent également à **Mme Latifa CHEBIL** qui a co-encadré ce travail de thèse. Je suis ravie d'avoir travaillé sous sa direction. Outre son appui scientifique, sa disponibilité, ses remarques pertinentes et son encouragement, je suis reconnaissante pour sa gentillesse et son sens de l'écoute. Merci d'être beaucoup plus qu'une encadrante pour moi. Avec **Mr GHOU**, vous avez eu un réel impact positif sur mon parcours professionnel et personnel. Je suis heureuse que vous fassiez ainsi partie aujourd'hui des personnes qui ont marqué ma vie.*

*Je remercie les professeurs Monsieur **Christian SANCHEZ** (Professeur à l'Université de Montpellier) et Madame **Elaine Rose MAIA** (Professeur à l'Université de Brasília) d'avoir accepté d'apporter un regard critique à ce mémoire en tant que rapporteurs. Ainsi, que Madame **Aude CORDIN** qui a accepté de me consacrer du temps en examinant ce manuscrit. J'en suis honorée et je vous exprime toute ma reconnaissance.*

*Je voudrais remercier également les membres des différentes équipes qui m'ont accueillie dans leurs locaux. Leur disponibilité et leur savoir ont contribué au bon déroulement de cette thèse. Merci particulièrement à Madame **Sylvie Migot** Responsable FIB et MET CM200 au CC-MEM à l'institut Jean Lamour pour sa patience et son aide pour les analyses par MET. Merci également à Monsieur **Florentin MICHAUX**, maitre de conférences au laboratoire d'ingénierie des biomolécules (LiBio) pour son aide et sa disponibilité pour les analyses par DLS.*

Je tiens également à adresser mes sincères remerciements à toutes les personnes formidables de l'équipe BioProMo : Les permanents, les anciens et futurs docteurs ainsi que les stagiaires pour leur soutien, leur encouragement et leurs échanges amicaux pendant ces années de thèse. Merci à Léna, avec qui on a pu se motiver mutuellement, partager nos moments de stress et de doutes lors de la rédaction de nos manuscrits, Serge, Aline, Mengyao, Philippe, Céline, Caroline, Julien, Chafik, Irina Ioannou, Céline Charbonnel...

Merci tout particulièrement à ma chère Hind, ma camarade de parcours, pour son amitié, sa compagnie, sa spontanéité et sa bonne humeur et à mes collocs de bureau Fred qui m'a fait connaître le Reiki et le petit nouveau Bastien pour sa bonne humeur et son soutien. Je finis par remercier tout particulièrement ma chère Amani, qui m'a aidé et soutenu pendant la période difficile de la rédaction. Merci pour ton altruisme, ta générosité, ta gentillesse, ton aide inconditionnelle et tes bons petits plats.

Je dois un énorme merci à Assa, tu étais et tu es toujours comme une sœur pour moi. Merci pour tout Assaty.

Un grand Merci à ma chère Aroua pour son aide inconditionnelle, sa bonne humeur et sa joie communicative.

Les amis c'est la famille dont on a choisi les membres. Des rencontres exceptionnelles ont embelli ces années passées à Nancy. Un grand merci à mes très chers Khoukha et Faysaloun, Bouba et Milano, Halloula, Ahmed. Un grand merci à Nadine, Sarah, Wassim ...

Merci aux petits nancéiens Rafi, Mouhamed, Sama, Lynn et Sami.

Il est temps de remercier ma petite et grande famille pour leur amour et leur soutien inconditionnel qu'ils n'hésitèrent jamais à me le prouver : Merci à mes tatas, tontons, cousines et cousins.

Un grand merci à mes chers parents, aucun remerciement ne puisse exprimer ce que je vous dois, pour votre amour inconditionnel, bienveillance, affection, dévouement, sacrifices et soutien. J'espère que vous trouverez dans ce travail l'accomplissement de l'effort déployé. Un gigantesque merci à mes chers Mimi, Hamma et Zouza merci pour le dévouement et le soutien dont vous avez toujours fait preuve à mon égard. Vous étiez toujours à mes côtés pour me soutenir dans mes moments de stress et de déprime mais aussi dans mes moments de joie et de bonheur. Avec mes parents, vous êtes ce que j'ai de plus cher au monde. Je vous aime.

Un grand merci à ma grand-mère pour son amour sincère, son soutien sans faille et ses chaleureuses prières.

Enfin, un merci tout particulier à Yassine pour son amour et son soutien inconditionnel.

J'ai encore une infinie liste de personnes et je ne ferai pas le pari de les énumérer sans risque d'en omettre certains. Je m'astreins à un devoir de reconnaissance à l'égard de tous.

Je dédie ce travail à la petite Rayhouna.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
I. Solubilité des composés phénoliques: Cas des flavonoïdes	I.4
Introduction.....	I.4
1. Solubility enhancement by experimental approach.....	I.10
1.1. Flavonoid functionalization reactions.....	I.10
1.2. Adding adjuvants	I.17
1.3. Using of solvents mixture.....	I.17
1.4. Crystallization.....	I.18
1.5. Encapsulation.....	I.19
2. Solubility studies by molecular and mesoscale modeling simulations	I.20
2.1. Solubility studies by molecular modeling simulations	I.21
2.2. Solubility studies by mesoscale simulations	I.25
Contribution de la revue	I.36
II. Méthodes utilisées pour les simulations des systèmes à l'échelle moléculaire et mésoscopique	
II.3	
1. Les méthodes de simulation à l'échelle moléculaire	II.39
1.1. Calcul des paramètres de Flory-Huggins à partir de l'énergie de mélange : La théorie Monte Carlo et le théorème de Flory-Huggins étendu	II.40
1.2. Calcul des paramètres d'interactions de Flory Huggins à partir de la méthode de la solubilité : Théorie de la dynamique moléculaire	II.42
1.2.1. Le potentiel	II.43
1.2.2. Algorithmes d'intégration en dynamique moléculaire.....	II.43
1.2.3. Le champ de force COMPASS.....	II.46
1.2.4. Calcul du paramètre de solubilité à partir de la dynamique moléculaire	II.49
2. Simulations à l'échelle mésoscopique	II.50
2.1. Dynamique de la particule dissipative DPD	II.50
2.1.1. Introduction	II.51
2.1.2. Les équations du mouvement.....	II.52
2.1.3. Mise à l'échelle de la longueur, de la vitesse et du temps	II.53
2.1.4. Relation avec la théorie de Flory-Huggins	II.54
2.2. Théorie de la fonctionnelle de la densité dynamique (MesoDyn).....	II.57
2.2.1. Introduction	II.57
2.2.2. Théorie dans MesoDyn	II.57
III. Matériel et méthodes	III.62
1. Matériel.....	III.63

1.1.	Logiciel utilisé.....	III.63
1.2.	Réactifs.....	III.64
1.2.1.	Solvants.....	III.64
1.2.2.	Flavonoïdes.....	III.66
1.2.3.	Polymères.....	III.67
2.	Résumé de la méthodologie générale adoptée.....	III.68
3.	Etude de la solubilité des flavonoïdes dans différents solvants organiques.....	III.68
3.1.	Etablissement des modèles gros grains du système étudié.....	III.68
3.2.	Choix du champ de forces.....	III.71
3.3.	Calcul des paramètres d'interactions.....	III.71
3.4.	Etude des interactions par la dynamique de la particule dissipative DPD.....	III.72
3.4.1.	Principe.....	III.72
3.4.2.	Calcul des paramètres de répulsion.....	III.72
3.4.3.	Paramétrage des simulations DPD.....	III.72
3.5.	Etude de la dispersion ou de la séparation de phase par MFDFT.....	III.74
3.5.1.	Principe.....	III.74
3.5.2.	Calcul des paramètres d'interactions.....	III.74
3.5.3.	Paramétrage des simulations MFDFT.....	III.74
4.	Etude des interactions entre flavonoïde et polymère en milieu aqueux.....	III.75
4.1.	Choix des systèmes à étudier.....	III.75
4.2.	La taille du système et les différents paramétrages pour DPD.....	III.76
4.3.	Choix de champ de forces.....	III.76
4.4.	Calcul des paramètres d'interactions.....	III.77
4.5.	Etude de la dispersion ou de la séparation de phase par MFDFT.....	III.78
5.	Validation expérimentale des résultats.....	III.78
5.1.	Détermination de la solubilité.....	III.78
5.1.1.	Etude de la solubilité dans différents solvants organiques.....	III.78
5.1.2.	Principe de la chromatographie liquide haute performance (CLHP).....	III.78
5.2.	Formation des nanoparticules.....	III.80
5.3.	Détermination de la taille des nanoparticules par diffusion dynamique de la lumière DLS III.81	
5.4.	Morphologie des particules par microscopie électronique en transmission (MET).....	III.83
IV.	Choix des systèmes d'étude et mise au point de la méthodologie.....	IV.85
	Introduction.....	IV.86
1.	Choix du polymère.....	IV.86
1.1.	La gomme xanthane.....	IV.86

1.2.	L'acide hyaluronique.....	IV.87
1.3.	Le poly(lactide-co-glycolide) (PLGA)	IV.88
2.	Choix des flavonoïdes	IV.88
2.1.	La quercétine	IV.89
2.2.	L'isoquercétine.....	IV.89
2.3.	La rutine	IV.90
3.	Présentation des systèmes étudiés par modélisation moléculaire et méso-modélisation ...	IV.91
3.1.	Etude de la structure des flavonoïdes à l'échelle moléculaire et mésoscopique : définition des modèles gros grains	IV.91
3.2.	Système gomme xanthane/ rutine	IV.93
3.2.1.	Définition du modèle gros grain	IV.93
3.2.2.	Etude de l'organisation du système rutine/gomme xanthane/eau/éthanol par modélisation moléculaire et mésomodélisation.....	IV.94
3.3.	Système acide hyaluronique/rutine.....	IV.95
3.3.1.	Définition du modèle gros grain	IV.96
3.3.2.	Etude de l'organisation du système acide hyaluronique/rutine par modélisation moléculaire et méso-modélisation.....	IV.96
3.4.	Etude de l'organisation du système PLGA/quercétine par modélisation moléculaire et mésoscopique.....	IV.97
3.4.1.	Détermination du nombre de perles par chaîne polymérique de PLGA et de PVA.	IV.98
3.4.2.	Détermination de la masse et de la taille des perles.....	IV.98
3.4.3.	Détermination des volumes des perles	IV.99
3.4.4.	Définition du modèle gros grain et détermination des paramètres nécessaires pour les simulations par Dynamique de la Particule Dissipative DPD (adaptée de Jarray et al. (Jarray et al., 2016))	IV.100
3.4.5.	Composition des systèmes étudiés.....	IV.103
	Conclusion	IV.104
V.	Etude de la solubilité des flavonoïdes dans différents solvants par une approche multi-échelle	V.108
	Introduction.....	V.109
1.	Introduction	V.110
2.	Material and methods.....	V.112
2.1.	Materials	V.112
2.2.	Dissolution experiments and analysis.....	V.112
2.3.	Transmission Electron Microscopy (TEM) and Scanning Electron Microscopy (SEM)...	V.113
2.4.	Computational modeling	V.113
2.4.1.	Dissipative particle dynamics simulations	V.113
2.4.2.	MesoDyn simulations.....	V.116

3.	Results and discussion	V.117
3.1.	Identification of interactions between flavonoids and solvents using Flory-Huggins interaction parameter determination.....	V.117
3.2.	Study of the beads miscibility by DPD simulations.....	V.119
3.3.	Study of phase separation by Mesodyn simulations	V.125
3.4.	Prediction of phase separation by Mesodyn simulations.....	V.132
4.	Conclusion.....	V.134
	Contribution de l'article	V.137
VI.	Développement d'une approche multi-échelle pour l'étude des assemblages PLGA/quercétine	VI.138
	Introduction.....	VI.139
1.	Introduction	VI.141
2.	Materials and methods.....	VI.142
2.1.	Study of quercetin behavior in water and in presence of PLGA with MesoDyn	VI.142
2.1.1.	Theory in MesoDyn.....	VI.142
2.1.2.	System studied.....	VI.145
2.1.3.	MesoDyn interaction parameter calculation.....	VI.145
2.1.4.	MesoDyn run parameters.....	VI.147
2.1.5.	Aggregation or phase separation behavior.....	VI.148
2.2.	Materials	VI.148
2.3.	Nanoparticle preparation.....	VI.148
2.4.	Particle size measurements	VI.149
2.5.	Morphology of the particles	VI.149
3.	Results and discussion	VI.149
3.1.	Study of aggregation phenomena by MesoDyn simulations.....	VI.149
3.1.1.	Effect of PVA concentration on aggregation phenomena	VI.149
3.1.2.	Effect of quercetin concentration on aggregation phenomena	VI.151
3.1.3.	Effect of PLGA 75/25 concentration on aggregation phenomena.....	VI.153
3.1.4.	Effect of LA: GA ratio of PLGA on aggregation phenomena	VI.156
	Contribution de l'article	VI.165
	Conclusion générale	VI.167

LISTE DES TABLEAUX

Table I.1: Values of solubility of some flavonoids in different solvents from the literature.....	I.7
Table I.2 : Enzymatic glycosylation of flavonoids using glycoside hydrolases (Plaza et al., 2014)...	I.13
Table I.3 : Solubility of rutins and poly (rutin)s in several solvents	I.14
Table I.4 : Water and 1-octanol solubilities of prunin and prunin 6''-O-acyl esters at 20 °C.....	I.15
Table I.5 : Experimental and calculated solubilities (c, mol/L) at 323 K of quercetin in chloroform, water, acetonitrile, acetone, and 2-methyl-2-butanol	I.23
Tableau III.1 Informations liées aux solvants utilisés	III.65
Tableau III.2 : Informations liées aux flavonoïdes utilisés	III.66
Tableau III.3 : Informations sur les polymères utilisés	III.67
Tableau III.4 : Représentation gros grains des flavonoïdes et solvants utilisés	III.69
Tableau III.5 : Représentation gros grains du PLGA, PVA, quercétine et eau	III.76
Tableau III.6 : Gradient utilisé en CLHP	III.79
Tableau III.7 : Equations des courbes d'étalonnage des 3 flavonoïdes utilisés.....	III.79
Tableau IV.1 : Différents modèles gros grains testés pour les 3 flavonoïdes.....	IV.92
Tableau IV.2 : Modèles gros grains les plus stables énergétiquement.....	IV.93
Tableau IV.3 : Valeurs des paramètres de Flory Huggins obtenues à 298K par le champ de force COMPASS	IV.95
Tableau IV.4 : Valeurs des paramètres de Flory Huggins obtenues à 298K par le champ de force DREIDING.....	IV.95
Tableau IV.5 : Valeurs de paramètres de Flory Huggins obtenus à 298K	IV.97
Tableau IV.6 : Valeurs de paramètres de Flory Huggins obtenus à 298K	IV.97
Tableau IV.7 : Nombre de perles par chaîne polymérique pour le PLGA 75/25 et le PVA	IV.98
Tableau IV.8 : Détermination de la masse et de la taille des perles de polymères.....	IV.99
Tableau IV.9 : volume des différentes perles du système étudié	IV.99
Tableau IV.10 : Paramètres de répulsion (perles de polymères contenant 3 monomères).....	IV.102
Tableau IV.11 : Paramètres de répulsion (perles de polymères contenant 1 monomère)	IV.102
Tableau IV.12 : Tableau récapitulatif des paramètres de calcul DPD.....	IV.103
Table V.1 : Flory-Huggins interaction parameters of flavonoid (quercetin (B1 and B2), isoquercitrin (B2, B3 and B4) and rutin (B2, B3 and B5)) and solvents (acetonitrile (ACN), <i>tert</i> -amyl alcohol (MB), propanol (PL), isopropanol (ISPL), benzonitrate (BZN), acrylonitrile (ACRL))	V.118
Table V.2 : Solubilities of quercetin, isoquercitrin and rutin in <i>tert</i> -amyl alcohol (MB), acetonitrile (ACN), propanol (PL), isopropanol (ISPL), benzonitrate (BZN) and acrylonitrile (ACRL).....	V.119

Table V.3 : a_{ij} repulsion parameters. Quercetin (B1 and B2), isoquercitrin (B2, B3 and B4), rutin (B2, B3 and B5), acetonitrile (ACN) and <i>tert</i> -amyl alcohol (MB)	V.120
Table V.4 : λ_{ij} via E_{mix} -dependent method at 323 K (kJ/mol). Quercetin (B1 and B2), acetonitrile (ACN) and <i>tert</i> -amyl alcohol (MB).....	V.125
Table V.5 : λ_{ij} via E_{mix} -dependent method at 323 K (kJ/mol). Quercetin (B1 and B2) and isopropanol (ISPL)	V.132
Table VI.1 : Molecular weight M_w , density ρ , bead volume V and solubility parameter δ of repeating units and molecules (LA, GA, PVA, Q1, Q2 and W: Figure VI.2).....	VI.147
Table VI.2 : Interaction parameter λ_{IJ} according to equation VI.14	VI.147
Table VI.3 : Order parameter and time step of the beginning of separation at different Q concentrations	VI.152
Table VI.4 : Order parameter and time step of the beginning of separation at different PLGA 75/25 concentrations.....	VI.154
Table VI.5 : Order parameter and time step of the beginning of separation with different PLGA types without quercetin.....	VI.157

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Different classes of flavonoids and their structures (Di Carlo et al., 1999; HOLLMAN et KATAN, 1999).....	1.6
Figure I.2 : Correlation between solubility and energy of solvation (ΔG_{solv}) of quercetin in various solvents.....	1.22
Figure I.3 : Contour maps of the solvent density around quercetin: (a) water; (b) acetonitrile; (c) acetone; (d) 2-methyl-2-butanol; (e) chloroform.....	1.23
Figure II.1 : La simulation à différentes échelles.....	II.39
Figure II.2 : Relation entre le paramètre de Flory-Huggins et le paramètre de répulsion de DPD déterminée par Groot et Warren. La courbe en bleu représente une densité de perle de 5, et la courbe violet représente une densité de perle de 3.....	II.56
Figure III.1 : Méthodologie générale adoptée.....	III.68
Figure III.2 : Nomenclature et numérotation systématique de la quercétine.....	III.69
Figure III.3 : Exemple d'optimisation de l'énergie (a) et des dimensions (b) du système par différents algorithmes.....	III.73
Figure III.4 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	III.80
Figure III.5 : Principe de la diffusion dynamique de la lumière.....	III.82
Figure III.6 : Zetasizer Nano ZS.....	III.82
Figure IV.1 : Structure de l'unité répétitive de la gomme xanthane (la quantité de substituant est variable).....	IV.87
Figure IV.2 : Structure de l'unité répétitive de l'acide hyaluronique (Halake et Lee, 2017).....	IV.88
Figure IV.3 : Structure des unités répétitives du PLGA.....	IV.88
Figure IV.4 : Structure de la quercétine.....	IV.89
Figure IV.5 : Structure de l'isoquercitrine.....	IV.90
Figure IV.6 : Structure de la rutine.....	IV.90
Figure IV.7 : Différentes possibilités de découpage avec ou sans H et avec ou sans groupement OH (cas de la rutine).....	IV.91
Figure IV.8 : Définition des modèles gros grains du système rutine (B3, B1, B5) / xanthane (X) / eau (W) / éthanol (E).....	IV.94
Figure IV.9 : Modèle gros grain du système de l'acide hyaluronique avec 6 monomères par perle.....	IV.96
Figure V.1 : Coarse-grained models of (A) bead model of quercetin for which beads B1 and B2 were defined to constitute a single quercetin molecule (B) bead model of isoquercetrin for which beads B3, B2 and B4 were defined to constitute a single isoquercetrin molecule (C) bead model of rutin for which beads B3, B2 and B5 were defined to constitute a single rutin molecule (D) assignment of a single bead I to represent acetonitrile I assignment of a single bead MB to represent tert-amyl	

alcohol(F) assignment of a single bead PL to represent propan-1-ol (G) assignment of a single bead ISPL to represent isopropanol (H) assignment of a single bead BZN to represent benzonitrile (I) assignment of a single bead ACRL to represent acrylonitrile	V.114
Figure V.2 : Radial distribution functions of interbead interaction a) B1-ACN and B1-MB bead pairs b) B2-ACN and B2-MB bead pairs, c) B1-B1 bead pairs and d) B2-B2 bead pairs for Q-ACN and Q-MB systems	V.122
Figure V.3 : Radial distribution functions of interbead interaction a) B2-ACN, B2-MB bead pairs for I-ACN and I-MB systems, b) B3-ACN and B3-MB bead pairs for I-ACN and I-MB systems, c) B4-ACN and B4-MB bead pairs for I-ACN and I-MB systems, d) B2-B2 bead pairs for I-ACN and I-MB systems, e) B3-B3 bead pairs for I-ACN and I-MB systems and f) B4-B4 bead pairs for I-ACN and I-MB systems	V.123
Figure V.4 : Radial distribution functions of interbead interaction a) B2-ACN, B2-MB bead pairs for R-ACN and R-MB systems, b) B3-ACN and B3-MB bead pairs for R-ACN and R-MB systems, c) B5-ACN and B5-MB bead pairs for R-ACN and R-MB systems, d) B2-B2 bead pairs for R-ACN and R-MB systems, e) B3-B3 bead pairs for R-ACN and R-MB systems and f) B5-B5 bead pairs for R-ACN and R-MB systems	V.124
Figure V.5 : Snapshots of solubilization process of quercetin (B1, B2) in acetonitrile (ACN) (A) and in <i>tert</i> -amyl alcohol (MB) (B) (50 g/L) at (a) 1 step, (b) 500 000 steps and (c) 1 000 000 steps. B1 beads are in black, B2 beads are in dark gray and MB in light gray	V.126
Figure V.6 : Snapshots of solubilization process of isoquercitrin (B2, B3, B4) in acetonitrile (ACN) (A) and in <i>tert</i> -amyl alcohol (MB) (B) (50 g/L) at (a) 1 step, (b) 500 000 steps and (c) 1 000 000 steps. B2 beads are in black, B3 beads are in dark gray, B4 and MB in light gray.....	V.127
Figure V.73 : Dissolution kinetics of quercetin in isopropanol (light gray).....	V.134
Figure VI.1 : Quercetin structure.....	VI.142
Figure VI.2 : Coarse-grained model: molecules and monomer conversion into beads for Quercetin (Q), Poly (Lactic-co-Glycolic acid) (PLGA), Polyvinyl alcohol (PVA) and Water (W)	VI.145
Figure VI.3 : Phase separation over time at final simulation step for different PVA concentrations (A) 0.5% PVA (B) 1% and (C) 5%.....	VI.150
Figure VI.4 : Organization of different system beads in one aggregate.....	VI.150
Figure VI.5 : Phase separation over time with different Q concentrations (A) 0.1 g/L (at 0, 82000 and 100000 simulation step respectively) (B) 0.5 g/L (at 0, 80000 and 100000 simulation step respectively) and (C) 2g/L (at 0, 43000 and 100000 simulation step respectively) with 10g/L PLGA and 0.5%PVA	VI.152
Figure VI.6 : Effect of the Q concentration on the nanoparticles mean-diameter.....	VI.153
Figure VI.7 : Morphology of nanoparticles in the case of 0.1 g/L of Q at different magnification.....	VI.153

Figure VI.8 : Phase separation over time with different PLGA75/25 concentrations (A) 1g/L (at 80000, 95000 and 100000 simulation step respectively) (B) 2 g/L (at 0, 7000 and 100000 simulation step respectively) and (C) 10 g/L (at 1000, 4000 and 100000 simulation step respectively) with 0.5g/L of Q and 0.5% PVA.....	VI.154
Figure VI.9 : Effect of the PLGA 75/25 concentration on the nanoparticles mean-diameter with 0.5 g/L of Q and 0.5% of PVA.....	VI.155
Figure VI.10 : Morphology of nanoparticles in the case of 1 g/L of PLGA 75/25 at different magnifications	VI.155
Figure VI.11 : Phase separation over time with different PLGA nanoparticles (quercetin free) (A) PLGA75/25 (at 0, 4000 and 20000 simulation step respectively) (B) PLGA 65/35 (at 0, 6000 and 20000 simulation step respectively) and (C) PLGA 50/50 (at 0, 8000 and 20000 simulation step respectively) with 10g/L PLGA and 0.5%PVA	VI.157
Figure VI.12 : PLGA particles and PLGA-Q loaded particles mean diameters for different PLGA types	VI.158
Figure VI.13 : Phase separation over time for PLGA75/25 10g/L, Q 0.5g/L and PVA 0.5% system at (1000, 3000 and 4000 simulation steps respectively).....	VI.158
Figure VI.14 : Morphology of different nanoparticles with (A) PLGA-Quercetin free nanoparticles (B) Quercetin without PLGA and (C) PLGA – Q loaded nanoparticles	VI.159

LISTE DES ABREVIATIONS

AC	Acétone
ACN	Acétonitrile
ACRL	Acrylonitrile
AG/GA	Acide glycolique
AH	Acide hyaluronique
a_{ij}	Paramètre de répulsion
AL/LA	Acide lactique
b	Taille de la perle
B1	Perle B1
B2	Perle B2
B3	Perle B3
B4	Perle B4
B5	Perle B5
BZN	Benzonitrile
C_{∞}	Ratio caractéristique d'un polymère d'une taille infinie
CED	Densité de l'énergie cohésive
CLHP / HPLC	chromatographie liquide haute performance
C_n	Ratio caractéristique d'un polymère d'une taille définie
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
DM	Dichlorométhane
E	Ethanol
E_{mix}	Energie de mélange
F	Energie libre
fs	Femto seconde
$g(r)$	Fonction de distribution radiale
Gpa	Giga pascal
I	Isoquercétine
ISPL	Isopropanol
K	Kelvin
k_B	Constante de Boltzmann
kV	kiloVolt
m	Masse de la perle
MB	2-methyl-2-butanol
MET/TEM	Microscopie électronique en transmission
MFDFT	Mean-field density functional theory
M_m	Masse molaire d'un monomère
N_A	Nombre d'Avogadro
ndPD	Nombre de perles
N_m	Le degré de "coarse graining"

NPT	Ensemble statistique
NVT	Ensemble statistique
P	Paramètre d'ordre
PGA	Acide polyglycolique
PI	Indice de polydispersité
PL	Propan-1-ol
PLA	Acide polylactique
PLGA	Poly(Lactic-co-Glycolic) acid
PLGA50/50	Poly(Lactic-co-Glycolic) acid 50/50
PLGA65/35	Poly(Lactic-co-Glycolic) acid 65/35
PLGA75/25	Poly(Lactic-co-Glycolic) acid 75/25
Ps	Picoseconde
PVA	Alcool polyvinylique
PVA	Perle PVA
Q	Qercétine
Q1	Perle Q1
Q2	Perle Q2
R	Rutine
R	Constante des gaz parfaits
r_c	Rayon d'interaction
RDF	Fonction de distribution radiale
SEM	Microscopie électronique à balayage
T	Température
V	Volume
V_p	Volume de la perle
W	Eau
X	Gomme xanthane
Z	Nombre de coordination
δ	Paramètre de solubilité
η	Bruit
λ_{ij}	Paramètre d'interaction en kJ/mol
μs	Microseconde
ρ	Densité
χ_{ij}	Paramètre de Flory Huggins

INTRODUCTION GENERALE

De nos jours, l'utilisation d'actifs d'origine naturelle dans les domaines de la santé et de bien-être des individus fait l'objet d'un engouement de plus en plus important. Plusieurs études ont été réalisées pour identifier les molécules bioactives, leurs bienfaits ainsi que leur formulation dans différents produits alimentaires, pharmaceutiques ou cosmétiques.

Parmi ces molécules bioactives, les flavonoïdes, des métabolites secondaires de plantes, s'avèrent des molécules de choix grâce à leur abondance dans plusieurs matières premières d'origine végétale ainsi que leur pouvoir antioxydant très élevé. Les flavonoïdes sont des diphenylpropanes de formule générale (C6-C3-C6) où les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques forment généralement un hétérocycle oxygéné. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux. On les trouve, dans l'écorce, le bois, la fleur, le fruit, ou la graine de plusieurs plantes (Tanaka et al., 2008). Les flavonoïdes sont synthétisés généralement par les plantes en réponse à un stress externe tel que la lumière UV, les attaques microbiologiques et les endommagements physiques (Tanaka et al., 2008). Les flavonoïdes sont connus quant à leurs propriétés antitumorales, vaso-dilatoires, antibactériennes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogènes, anti-atherogéniques, antithrombotique, anti-allergique, antiparasitaires et anti carcinogènes (Shon et al., 2004). Ces propriétés sont dues principalement à leur activité antioxydante et dépendent essentiellement de leurs structures. Grâce à ces activités, les flavonoïdes sont incorporés dans de nombreuses formulations alimentaires (Dyrby et al., 2001), biocides (Mihara et al., 2005), cosmétiques ou pharmaceutiques (Pretorius, 2003).

Cependant, la solubilisation, la dispersion et la stabilisation de ces molécules sont variables selon les structures de ces molécules et l'environnement physico-chimique dans lequel ils évoluent. Plusieurs auteurs se sont intéressés aux méthodes permettant de pallier ces problèmes de solubilité et de stabilité. Parmi les solutions proposées, on trouve des réactions de fonctionnalisation, de formulation dans différentes matrices, d'utilisation des solvants ou d'un mélange de solvants spécifiques, ou leur incorporation dans des matrices polymériques.

Dans ce travail de thèse, on s'est focalisé sur les procédés d'incorporation de flavonoïdes dans des matrices polymériques. Pour pouvoir comprendre le rôle que joue chaque composé du système sur la solubilité et la stabilité, nous avons étudié les interactions entre le flavonoïde,

le solvant et le polymère. Par cette étude, on vise à identifier l'origine et les entités responsables de la solubilisation et de la stabilité des flavonoïdes dans différentes matrices d'incorporation. Deux approches complémentaires ont été menées. Il s'agit d'une part, d'une approche de modélisation multi échelle (moléculaire et mésoscopique) et d'autre part d'une approche expérimentale de validation des résultats issus de la modélisation.

Le premier objectif scientifique de ce travail est donc de développer une approche de modélisation à l'échelle moléculaire et mésoscopique permettant de comprendre et de prédire la solubilisation et la stabilisation de flavonoïdes en solution. Le second objectif est de compléter cette première approche par une démarche expérimentale qui permettrait de valider la démarche de modélisation et d'améliorer ses capacités prédictives. En effet, la compréhension des différents mécanismes à l'origine de la solubilité et de la stabilité des flavonoïdes en solution, servira, *in fine*, à développer une approche rationnelle de formulation de ces composés pour des applications alimentaires et non alimentaires. Cette démarche rationnelle de formulation permet un gain de temps et de moyens en limitant le nombre d'expérimentation.

Ce manuscrit de thèse est structuré en trois parties : i) Un premier chapitre, où l'ensemble des travaux liés à la solubilité des composés phénoliques (plus particulièrement à celle des flavonoïdes) et les différentes méthodes de simulation à l'échelle moléculaire et mésoscopique sont présentés, ii) Dans un deuxième chapitre, le matériel et les méthodes utilisés tout au long de ce travail ainsi que la méthodologie adoptée pour traiter les problématiques posées sont décrits, et iii) un dernier chapitre portera sur la présentation des résultats obtenus et subdivisé en sous-chapitres avec une première partie « mise au point » qui présente les essais préliminaires effectués afin de choisir les systèmes à étudier et la méthodologie à adopter, une deuxième partie présentant les résultats de l'étude de la solubilité de trois flavonoïdes (la quercétine, la rutine et l'isoquercétine) dans différents solvants organiques par une approche multi-échelle et une troisième et dernière partie consacrée aux résultats du développement d'une approche multi-échelle pour l'étude des assemblages entre la quercétine et le poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) dans un milieu aqueux.

Références bibliographiques

1. Dyrby, Marianne, Nanna Westergaard, and Henrik Stapelfeldt. 2001. "Light and Heat Sensivity of Red Cabbage Extract in Soft Drink Model Systems." *Food Chemistry* 72 (March):431–37.
2. Mihara, R., K. M. Barry, C. L. Mohammed, and T. Mitsunaga. 2005. "Comparison of Antifungal and Antioxidant Activities of Acacia Mangium and A-Auriculiformis Heartwood Extracts." *Journal of Chemical Ecology* 31 (4):789–804.
3. Pretorius, J. C. 2003. "Flavonoids: A Review of Its Commercial Application Potential as Anti- Infective Agents." *Current Medicinal Chemistry - Anti-Infective Agents*. November 30, 2003.
4. Shon, Mi-Yae, Sang-Do Choi, Goon-Gjung Kahng, Sang-Hae Nam, and Nak-Ju Sung. 2004. "Antimutagenic, Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Ethyl Acetate Extracts from White, Yellow and Red Onions." *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 42 (4):659–66.
5. Tanaka, Yoshikazu, Nobuhiro Sasaki, and Akemi Ohmiya. 2008. "Biosynthesis of Plant Pigments: Anthocyanins, Betalains and Carotenoids." *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology* 54 (4):733–49.

Etude bibliographique

Chapitre I

I. Solubilité des composés phénoliques: Cas des flavonoïdes

Introduction

Les polyphénols constituent une classe importante de composés bioactifs (Malbert et al., 2014). Leur utilisation, comme ingrédients fonctionnels, gagne de plus en plus l'attention des consommateurs grâce à leur activité antioxydante. Cependant, certains flavonoïdes présentent une faible solubilité et stabilité dans les milieux organiques et surtout aqueux (Lipinski, 2001 ; Stegemann et al., 2007). A titre d'exemple, la solubilité de la quercétine et de la rutine dans l'acétonitrile à 50 °C est respectivement de 1,7 et 0,3 g/L (Chebil et al., 2010). La solubilité de ces molécules dans l'eau est également très faible (<0,01 g/L pour la quercétine et 0,125 g/L pour la rutine à 20 °C) (Calias et al., 1996). Or, la solubilité est un paramètre important qui déterminera s'il est possible ou non d'exploiter l'activité antioxydante dans une formulation donnée.

Pour augmenter la solubilité, la disponibilité et la stabilité des flavonoïdes en solution plusieurs approches expérimentales ont été décrites dans la littérature. Ainsi, de nombreuses réactions de fonctionnalisation (chimiques, enzymatiques ou chimio-enzymatiques) telles que les réactions de glycosylation, d'acylation, d'hydroxylation, de polymérisation, de méthylation, ou de complexation ... ont été étudiées. D'autres travaux, se basent sur l'ajout d'adjuvants ou de solvants tels que des polymères, des protéines ou de l'éthanol ont été aussi rapportés dans la littérature. Enfin, la co-cristallisation, la nanocristallisation, et l'encapsulation ont été décrites comme moyens envisageables pour améliorer les propriétés physicochimiques des flavonoïdes.

En plus des approches expérimentales citées précédemment, les simulations aux échelles moléculaire et mésoscopique permettent aussi d'élucider les interactions entre les flavonoïdes, les solvants et les adjuvants et ainsi prédire la solubilité et la stabilité du système.

Ce chapitre résume les principaux travaux qui ont été consacrés à l'évaluation de la solubilité de composés phénoliques et les différents moyens utilisés pour améliorer cette propriété physico-chimique.

Review:

Solubility of phenolic compounds: Case of flavonoids

Manel SLIMANE¹, Latifa CHEBIL^{1*} and Mohamed GHOU¹

¹Lorraine University – Laboratory Reactions and Process Engineering (LRGP)

2 avenue de la Forêt de Haye – TSA 40602 54518 VANDOEUVRE CEDEX FRANCE

E-mail : firstname.lastname@univ-lorraine.fr

*Corresponding author: latifa.chebil@univ-lorraine.fr

Introduction

Polyphenols constitute an important class of bioactive compounds (Malbert et al., 2014). Their use as functional food ingredients and antioxidants for preservation is gaining more and more attention. In fact, those secondary metabolites, widespread among plant species, are the most common antioxidants in the human diet. Flavonoids, as the most known polyphenols, are particularly promising candidates for use as functional foods and novel therapeutics due to their prominent biological activities. They are composed of a benzene ring (A), condensed with a six-membered pyran ring (C) carrying a phenyl ring (B) in the 2- or 3-position (Figure I.1).

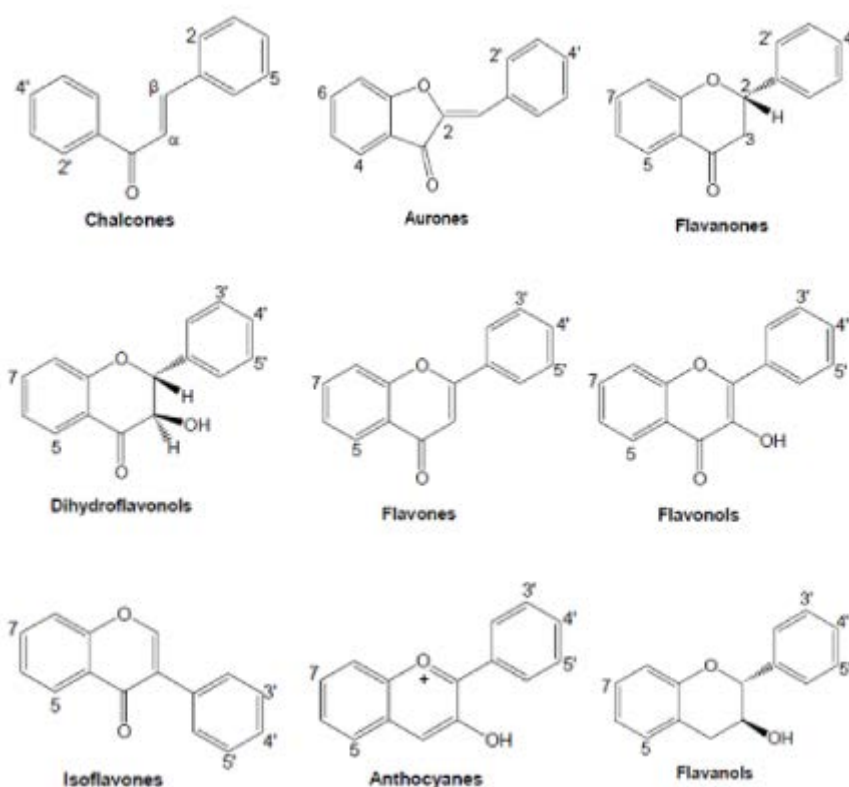


Figure I.1 : Different classes of flavonoids and their structures (Di Carlo et al., 1999; HOLLMAN et KATAN, 1999)

Some flavonoids have high antioxidant capacity, which has been shown to be higher than those of vitamins E and C *in vitro* studies. However, they exhibit low solubility and stability in aqueous media (Lipinski, 2001; Stegemann et al., 2007). This behavior reduces their use in different formulations (Gao et al., 2008). As an example the solubility of quercetin and rutin in acetonitrile at 50°C is of 1.7 and 0.3 g/L respectively (Chebil et al., 2010). While their

solubility in water is lower than 0.01 g/L for quercetin and 0.125 g/L for rutin at 20°C (Calias et al., 1996). The solubility of some flavonoids is given in Table I.1.

The solubility is an important parameter that will determine whether it is possible or not to exploit the antioxidant activity for a given compound in a diet (Hollman et al., 1995) or as a protector against oxidation. To illustrate the variation of the solubility depending to the structure of the flavonoid and the operating conditions, the solubility of the well known flavonoids is given in Table I.1.

Table I.1: Values of solubility of some flavonoids in different solvents from the literature

FLAVONOID	SOLUBILITY	TEMPERATURE (°C)	SOLVENT	REFERENCE
(+)-CATECHIN HYDRATE	2.26 g/L	25	Water	(Srinivas et al., 2010)a
(+)-CATECHIN HYDRATE	576 g/L	143	Water	(Srinivas et al., 2010)a
AMPELOPSIN	200.3 µg/mL (pH 6.1)	25	Water	(Ruan et al., 2005)
AMPELOPSIN	202.0 µg/mL (pH 1.2)	25	Water	(Ruan et al., 2005)
AMPELOPSIN	223.3 µg/mL (pH 2.8)	25	Water	(Ruan et al., 2005)
AMPELOPSIN	217.9 µg/mL (pH 4.6)	25	Water	(Ruan et al., 2005)
AMPELOPSIN	214.5 µg/mL (pH 6.0)	25	Water	(Ruan et al., 2005)
ANHYDROUS QUERCETIN	0.00215 g/L	25.6	Water	(Srinivas et al., 2010)b
ANHYDROUS QUERCETIN	0.00469 g/L	41.5	Water	(Srinivas et al., 2010)b
ANHYDROUS QUERCETIN	0.0135 g/L	61.8	Water	(Srinivas et al., 2010)b
ANHYDROUS QUERCETIN	0.033 g/L	82.1	Water	(Srinivas et al., 2010)b
ANHYDROUS QUERCETIN	0.066 g/L	102.2	Water	(Srinivas et al., 2010)b
ANHYDROUS QUERCETIN	0.253 g/L	122.5	Water	(Srinivas et al., 2010)b
ANHYDROUS QUERCETIN	0.666 g/L	142.7	Water	(Srinivas et al., 2010)b
APIGENIN	2.16 µg/mL	37°C (pH 7.5)	Water	(Zhang et al., 2012)
APIGENIN	1.43 µg/mL	37°C (pH 1.0)	Water	(Zhang et al., 2012)
APIGENIN	183 mg/L	25	Water	« national library of medicine »
ASTILBIN	0.5 mM	25	Water	(Zhang et al., 2013)
ASTILBIN	1.3 mM	40	Water	(Zhang et al.,

				2013)
DIHYDROMYRICETIN	9.63 mg/mL	25	n-octanol	(Liu et al., 2009)
DIOSMIN	0.00129 g/g	25	PEG-400	(Anwer et Shakeel, 2015)
DIOSMIN	0.00004 g/g	25	Isopropyl alcohol	(Anwer et Shakeel, 2015)
DIOSMIN	0.00003 g/g	25	Ethanol	(Anwer et Shakeel, 2015)
DIOSMIN	0.00002 g/g	25	Water	(Anwer et Shakeel, 2015)
FISETIN	<1 mg/g	-	Water	(Ragelle et al., 2012)
FISETIN	<14 mg/g	-	Ethanol	(Ragelle et al., 2012)
FISETIN	<1 mg/g	-	Soybean oil	(Ragelle et al., 2012)
FISETIN	<1 mg/g	-	Carthame oil	(Ragelle et al., 2012)
FISETIN	<1 mg/g	-	Miglyol® 812N	(Ragelle et al., 2012)
FISETIN	<1 mg/g	-	Capric acid	(Ragelle et al., 2012)
FISETIN	<1 mg/g	-	Captex® 355	(Ragelle et al., 2012)
FISETIN	2.89 mg/mL	27	Ethanol / Water (50 :50)	(Sowa et al., 2014)
GALLIC ACID HYDRATE	12.6 g/L	25	Water	(Srinivas et al., 2010)a
GALLIC ACID HYDRATE	2870 g/L	143	Water	(Srinivas et al., 2010)a
HESPERIDIN	Insoluble	-	Water	(Cao et al., 2015)
HESPERIDIN	0.00495 g/L	25	Water	(Majumdar et Srirangam, 2009)
HESPERIDIN	20 ppm	25	Water	(Tommasini et al., 2005)
HESPERIDIN	Insoluble	25	acetone	*
HESPERIDIN	Insoluble	25	benzene	*
HESPERIDIN	Insoluble	25	chloroforme	*
ISOQUERCETRIN	Traces	50	Acetonitrile	(Chebil et al., 2010)
ISOQUERCETRIN	30±0.9 (g/L)	50	M2B2	(Chebil et al., 2010)
MYRICETIN	0.0119 mM	25	Water	(Yao et al., 2014)
MYRICETIN	0.01576 mM	37	Water	(Yao et al., 2014)
NARINGENIN	43.83 µg/mL	-	Water	(Semalty et al., 2010)
NARINGENIN	440.163 µg/mL	-	η-octanol	(Semalty et al., 2010)
NARINGENIN	41.81 µg/mL	-	Water	(Semalty et al.,

NARINGENIN	437.143 μg/mL	-	η-octanol	2014) (Semalty et al., 2014)
NARINGIN	0.5 (g/L)	20	Water	(Pulley G, 1936)
PROTocatechuic ACID (TYPE POLYPHENOL)	29.4 g/L	25	Water	(Srinivas et al., 2010)a
PROTocatechuic ACID (TYPE POLYPHENOL)	1180 g/L	143	Water	(Srinivas et al., 2010)a
PUERARIN	12.45 mM	Room temperature	Water	(Li et al., 2004)
QUERCETIN	1.7±0.006 (g/L)	50	Acetonitrile	(Chebil et al., 2010)
QUERCETIN	20±0.4 (g/L)	50	M2B2	(Chebil et al., 2010)
QUERCETIN	<0.01 (g/L)	20	Water	(Calias et al., 1996)
QUERCETIN	0.95 (g/L)	25	Water	(Razmara et al., 2010)
QUERCETIN	9.5 g/L	25	Ethanol	(Althans et al., 2014)
QUERCETIN	0.165–10.28 μg/mL		Water	(Althans, Schrader, & Enders, 2014)
QUERCETIN DIHYDRATE	0.00263 g/L	25.6	Water	(Srinivas et al., 2010)b
QUERCETIN DIHYDRATE	0.00426 g/L	41.5	Water	(Srinivas et al., 2010)b
QUERCETIN DIHYDRATE	0.0112 g/L	61.8	Water	(Srinivas et al., 2010)b
QUERCETIN DIHYDRATE	0.0454 g/L	82.1	Water	(Srinivas et al., 2010)b
QUERCETIN DIHYDRATE	0.161 g/L	102.2	Water	(Srinivas et al., 2010)b
QUERCETIN DIHYDRATE	0.358 g/L	122.5	Water	(Srinivas et al., 2010)b
QUERCETIN DIHYDRATE	1.49 g/L	142.7	Water	(Srinivas et al., 2010)b
QUERCIMERITRIN	insoluble	-	Water	(Calias et al., 1996)
RUTIN	0.3±0.006 (g/L)	50	Acetonitrile	(Chebil et al., 2010)
RUTIN	36±0.4 (g/L)	50	M2B2	(Chebil et al., 2010)
RUTIN	0.125 (g/L)	20	Water	(Calias et al., 1996)
TAXIFOLIN (DIHYDROQUERCETIN)	0.87 mg/mL	25	Artificial gastric juice /Methanol	(Zu et al., 2014)
TECTORIDIN	142 μg/mL	Room temperature	Water	(Han et al., 2012)
TECTORIGENIN	125 μg/mL	Room temperature	Water	(Han et al., 2012)

This Table indicates clearly that there is a need to develop a strategy in view to increase the solubility of these compounds. This strategy can be established either by the use of an experimental approach or by the development of the molecular and mesoscale modeling and simulation.

The experimental approach consists : i) to identify the appropriate functionalization reactions either enzymatic or chemo-enzymatic such as glycosylation, acylation, hydroxylation, polymerization, methylation, complexation... ii) to establish the adequate formulation with adjuvants such as polymers, proteins ... iii) to select the appropriate solvent or a mixture of solvents or to use processes such co-crystallization, nano crystallization and encapsulation to increase of the above physicochemical properties of flavonoids.

The molecular and mesoscale simulations allow to elucidate the interactions between flavonoids and solvents and thus to predict solubility and the stability of the system.

This review underlines the different ways described in literature that enabling to remediate to poor solubility, stability and disponibility of flavonoids and to understand the different interactions occurred depending on the applied operating conditions

1. Solubility enhancement by experimental approach

1.1. Flavonoid functionalization reactions

Flavonoid functionalization reactions constitute an efficient way to increase their biological and physico-chemical properties. The most studied reactions are hydroxylation, polymerization, esterification, alkylation and glycosylation reactions. So, the known data concerning these reactions will be presented and discussed.

- ***Hydroxylation***

Flavonoid hydroxylation can increase the biological and physico-chemical properties of flavonoids. It could also a mean to increase the number of hydroxyl groups to favor all the reactions cited previously. In fact, high hydroxyl group's number on flavonoids backbone are important for the antioxidizing capacity of a given compound and also plays a major role for further modifications of this compound. For these reasons, this reaction was the subject of several studies by different authors such as Amor et al. (Amor et al.^a, 2010). Those authors hydroxylate the naringenin with recombinant *E. coli* harboring flavanone 3 hydroxylase

(F3H) and in the presence of flavonoid 3'-hydroxylase (F3'H) expressed in *Saccharomyces cerevisiae*.

The conversion rate of naringenin was of about 70%. Naringenin-3-OH and naringenin-3'-OH can serve a substrates for additional reactions like polymerization, glycosylation, and acylation or to be used as an antioxidant after further purification. Naringenin (5,7-Dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one) has a poor solubility in water (41.81 µg/mL), while the solubility of kaempferol (3,5,7-Trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one), its hydroxylated form (440 µg/mL), is tenfold higher even at room temperature.

- ***Glycosylation***

The glycosylation of flavonoids is widely described in the literature. This reaction serves to modulate the hydrophilicity, bioactivity, bioavailability, stability and chemical properties of aglycones flavonoids (Gill and Valivety, 2000). This transformation can be lead either by chemical or by enzymatic way. Chemical glycosylation requires glycosyl activation and involves multiple steps of protection/deprotection to control the regio-selectivity of this reaction (Matwiejuk and Thiem, 2011). Despite this protection, the regioselective glucosylation of flavonols such as quercetin, kaempferol and myricetin, by chemical method remains very difficult. Enzymatic glycosylation is more attractive due to their chemo-, regio-, and enantioselectivity (Li et al., 2004a; Rather et al., 2012) and presents several advantages, such as mild reaction condition, high stereo or region selectivity and no protection/deprotection steps are needed (Ren et al., 2012).

In biological systems, glycosidases and glycosyltransferases are responsible for the synthesis and catabolism of carbohydrates (Wu et al., 2013). Glycosylation refers, in particular, to the enzymatic process that attaches glycans to proteins, lipids, or other organic molecules. Glycosylation is a form of co-translational and post-translational modification.

There is huge data on the effect of glycosylation on the solubility of flavonoids. It is well known that the presence of a sugar moiety usually increases the solubility of the flavonoids in water solutions. Glycosylated quercetin (Calias et al., 1996) as well as other glycosylated flavonols (Chen et al., 2011) was reported to have considerably enhanced water solubility compared to the corresponding aglycon. Calias et al., (Calias et al., 1996) reported that the solubility of the quercetin is less than 0.01 g/L, while the solubility of the rutin (glycosylated form) is about of 0.125 g/ at 20°C). As another example, the solubility of tectorigenin was of 125 µg/mL vs 142 µg/mL for the glycosylated form (Han et al., 2012).

Transglycosylation of puerarin by *Bacillus stearothermophilus* maltogenic amylase (BSMA) widely enhanced its solubility. In fact, the solubility of the transfer products (α -D-Glucosyl-(1 \rightarrow 6)-puerarin and α -Maltosyl-(1 \rightarrow 6)-puerarin) was 14 and 168 times higher than that of puerarin (178.59 mM, 2094.56 mM and 12.45 mM respectively).

The solubility is also affected by the position of the sugar moiety and the number of the bound sugars established on the backbone of the flavonoid. For example, the solubility of quercetin-3,4'-diglucoside, quercetin-3-glucoside and quercetin-4'-glucoside in water solution decreases in the same order (Murota et al., 2000; Rothwell et al., 2005). In fact, as shown by their structure, the less glycosylated groups in the structure, the less is their solubility in water. However, Chebil (Chebil et al., 2013) observed a decrease of the solubility for glycosylated compound compared to aglycon one.

The rate of the reaction of glycosylation is often limited by the low solubility of flavonoids. To overcome this problem Gao et al. (Gao et al., 2001) reported that flavonoids can be efficiently solubilized in supersaturated solutions prepared with glycosides donor's (such *p*-nitrophenyl glycosides, di and higher oligosaccharides, and PEG). Thus, the increase of the solubility favors the glycosylation rate of the enzymatic reaction.

Gurung et al. (Gurung et al., 2013) had synthesized apigenin glucosides by *in vitro* glycosylation reaction performed successfully by using an UDP-glucosyltransferase (YjiC), from *Bacillus licheniformis* DSM 13. The obtained glucosides (apigenin 4'-O-glucoside, apigenin 7-O-glucoside and apigenin 4',7-O-diglucoside) have higher water solubility compared to apigenin. Son et al. (Son et al., 2009) consider that enzymatic glycosylation with glycosyltransferases can be used to regulate the water solubility of aglycon flavonoids. Choung et al. (Choung et al., 2017) confirmed those conclusions. They found that enzymatic glycosylation of astragalin by cyclodextrin glucanotransferase with maltose enhanced its solubility in water. The solubility of glycosylated astragalin was 65-fold higher than that of astragalin (36.19 mM and 0.56 mM at 37°C respectively). Also, glycosylation of bavachinin by UDP-glucosyltransferase YjiC increased its water solubility. It was 10 times higher than the non-glycosylated form. The main reactions of glycosylation described in the literature are summarized in Table I.2.

Table I.2 : Enzymatic glycosylation of flavonoids using glycoside hydrolases (Plaza et al., 2014)

SOURCE	ENZYME	DONOR	ACCEPTOR	PRODUCT
ASPERGILLUS NIGER	cellulase	4np-fuc	catechin	catechin 4- β -D-fucopyranoside
BACILLUS STEAROTHERMOPHILUS	α -d-glucosidase	maltose	catechin	catechin 7- α -D-glucopyranoside catechin 5- α -D-glucopyranoside
BACILLUS SP.	α -amylase	dextrin	catechin	catechin 7- α -D-maltoside catechin 5- α -D-maltoside
LEUCONOSTOC MESENEROIDES	glucansucrase	sucrose	luteolin	luteolin-3'- α -D-glucopyranoside luteolin-4'- α -D-glucopyranoside
LEUCONOSTOC MESENEROIDES	glucansucrase	sucrose	quercetin	quercetin-3'- α -D-glucopyranosides quercetin-4'- α -D-glucopyranosides
LEUCONOSTOC MESENEROIDES	glucansucrase	sucrose	myricetin	myricetin-3'- α -D-glucopyranoside myricetin-4'- α -D-glucopyranoside
PENCILLIUM DECUMBENS	cellulase	maltose	quercetin	quercetin-3-rutinoside
HUMICOLA INSOLENS	synthase cel7b_e197s	α -glycosyl fluoride	luteolin	luteolin-5- α -D-glycosyl

- **Polymerization**

Enzymatic polymerization is defined as polymer synthesis in vitro via nonbiosynthetic pathways catalyzed by an isolated enzyme. In the enzymatic polymerizations, the product polymers can be obtained under mild reaction conditions without using toxic reagents. Oxidoreductases are one of the typical enzymes family used in polymerization of polyphenols. The structure and the properties of the obtained polymers depend on the monomer structure, the used solvent, and the origin of the enzyme (Kobayashi et al., 2001). Bruno et al. (Bruno et al., 2010) studied the physico-chemical properties of polyquercetin obtained by polymerization of quercetin by Horseradish peroxidase (HRP). Polyquercetin was highly soluble in water/ethanol mixture (60/40) due to the presence of dense OH groups on its backbone.

Catechin and rutin were also polymerized by Kurisawa et al. (Kurisawa et al., 2003a and b) using *Myceliophthora* laccase in a mixture of a polar organic solvent and buffer. The produced oligomers showed a good solubility. In fact, the monomer has a solubility in water

less than 0.1% at room temperature, whereas the water solubility of the polymer was larger than 5% (Table I.3). The obtained polymer was also soluble in N, N-dimethylformamide (DMF) and dimethyl sulfoxide (DMSO). However, the solubility of this polymer in pyridine and methanol was very low compared to the monomer. Anthoni (Anthoni et al., 2008) studied the effect of rutin's polymerization by laccase in biphasic media on its solubility. Those authors found that the solubility of rutin oligomers were 4200 folds higher than the rutin. A molecular modeling study of the hexamer indicated the presence of a dense network of H-bonds with water molecules which can explain the observed high solubility (Anthoni et al., 2008). The Table I.3 presents the solubility of rutin and its oligomers in different solvent.

Table I.3 : Solubility of rutins and poly (rutin)s in several solvents

Sample	Acetone	Dmf	DmsO	Methanol	Pyridine	Toluene	Water
Rutin (1)	-	++	++	++	++	-	-
Poly(1)	-	++	++	+	±	-	++
A-g-rutins (2)	-	++	++	++	++	-	++
Poly(2)	-	++	++	±	±	-	++

++, soluble; +, almost soluble; ± partly soluble; -, insoluble

- *Acylation*

Enzymatic acylation of natural polyphenols with fatty acids or other acyl donors has been reported as an efficient method to enhance lipophilic properties of the acylated flavonoids (De Araujo et al., 2017). In fact, this approach was widely known for increasing flavonoid solubility and stability in lipophilic systems. Enzymatic acylation of flavonoids consists of a fatty acid linkage on desired position of flavonoids to make them more hydrophobic. The chemical acylation is the widely used process but it is not regioselective and leads to an unwanted functionalization of phenolic hydroxyl groups. The enzymatic acylation using lipases is more regioselective and without undesired products. For these reasons, enzymatic reactions are preferred to chemical ones. They are regio-selective toward polyhydroxylated compounds like rutin (Chebil et al., 2006; Ardhaoui et al., 2004^b; Chebil et al., 2007).

The use of aromatic acids such as hydroxycinnamic acids in acylation reactions, decreases the solubility of anthocyanins (Glässgen, 1992). However, the use of small inorganic acids, such

as sulfuric acid, increases the solubility of quercetin in water solution. Therefore, it is reasonable to assume that acylation with hydrophilic acids will increase the hydrophilicity of the targeted flavonoids and vice versa (Lue et al., 2010). In another work, Lue et al. (Lue et al., 2010) suggested that acylation of rutin with medium or long chain fatty acids may result in improved lipophilic solubility. Falcimaigne et al. (Falcimaigne, 2004) investigated the solubility of acylated rutin in different solvents and observed a slight increase of the solubility's of the obtained products.

Celiz and Daz (Celiz et Daz, 2010) studied the solubility of alkyl esters of prunin obtained by enzymatic reaction using either immobilized Novozym 435 or Lipozyme RM IM. They observed, as indicated in Table I.4, a high variation of the solubility of prunin and its esters in water and in 1-octanol. These variation are attributed in one hand to the chain length of the used acyl donor and to the coefficient of partition of these compound in the used solvent.

Enhancement of lipophilicity and solubility of the flavonoids derivatives was also reported by Stevenson et al. (Stevenson et al., 2006) in their study of the enzymatic acylation of naringenin and quercetin-3-Oglucopyranoside using carboxylic acids as acyl donors (3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid; phenylpropionic acid; 3-(2-hydroxyphenyl) propionic acid ; 3-(3,4- dihydroxyphenyl) propionic acid transcinnamic acid).

Table I.4 : Water and 1-octanol solubilities of prunin and prunin 6''-O-acyl esters at 20 °C. nd: not detected. Data are expressed as the mean of duplicate assays. All standard deviations were below 5%.

	SOLUBILITY (MM)	
	Water	1-Octanol
PRUNIN	1.07	1.11
PRUNIN BUTYRATE	0.64	26.0
PRUNIN DECANOATE	Nd	66.0
PRUNIN LAURATE	Nd	66.7
PRUNIN STEARATE	Nd	116

- **Complexation**

Chemical reaction takes place between a metal ion and a molecular or ionic entity known as a ligand that contains at least one atom with an unshared pair of electrons. Complexation reactions of flavonoids using different compounds able to form complexes are widely used to enhance flavonoids physico-chemical and biological properties for a wide range of

applications. Lee and Jung (Lee et Jung, 2002) studied the complex formed between cyclophoraoes with various degrees of polymerization (DP) ranging from 17 to 27 and luteolin in aqueous media. The obtained solubility diagram indicated that the solubility of luteolin was greatly enhanced by the complexation with cyclophoraoes particularly in the presence of high degree of polymerization (Lee et al., 2003). Brewster and Loftsson reported in their review (Brewster et Loftsson, 2007) that cyclodextrins are very interesting solubilizing agents of small molecules.

In another study Tommasini et al. (Tommasini et al., 2005) found a 10 fold enhancement of the hesperetin solubility after its complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Same observation were reported by Zheng et al. (Zheng et al., 2005) during the complexation of quercetin with β -cyclodextrin, hydroxypropyl- β -cyclodextrin and sulfobutylether- β -cyclodextrin. The increase of the solubility was about of 21 to 55 folds. Calabro et al. (Calabro et al., 2004) reported the complexation of 3-Hydroxyflavones with α -cyclodextrin, and β -cyclodextrin. They indicated also an increase of the solubility of hydroxyflavones compared to parent's compounds. The same authors explored the feasibility of β -cyclodextrin complexation as a tool for improving the aqueous solubility of rutin. The obtained results indicated that the aqueous solubility of the rutin is increased proportionally with an increase of interacting of β -CD. The complexion by β -CD was also investigated with fruit polyphenols (Alvarez-Parrilla et al., 2005). Those authors concluded that the complexation of the apple flavonoids (quercetin and rutin) by β -CD stabilizes those compounds and increases their solubility and their antioxidant capacity. The aboved results obtained in the presence of rutin and quercetin were also confirmed (Vijaya Sri et al., 2007).

Zhang et al. (Zhang et al., 2013) analyzed the ability of freeze-drying method at a molar ratio of 1:1 to form microcapsules between astilbin and CDs (α -, β -, and γ -cyclodextrin) complexes. The results showed that solubility of astilbin in all CD microcapsules was improved. The highest solubility in β -CD microcapsules was almost equal to 0.060 M at 298 K, which was 122.1 times increased compared to astilbin alone.

The mechanism of the observed increase of the solubility is explained by the ability of cyclodextrin to form non-covalent dynamic inclusion complexes in solution. The solubilizing effect of cyclodextrin can be also attributed to the formation of aggregates and to their ability to form and stabilize supersaturated solutions.

In conclusion, the complexation of flavonoids with β -CD was the subject of several studies. All these studies indicated an increase of the solubility and the stability of the tested phenols.

So, this way appears to be very promising to increase the solubility of flavonoids in different formulations for food, cosmetic and pharmaceutical applications.

1.2. Adding adjuvants

Many adjuvants (polymers, surfactants ...) can be added to flavonoids' mixture to enhance their solubility. They are widely used and several studies proved their positive effect. Althans et al. (Althans et al., 2014) showed that the solubility of quercetin in water arises up to 3 times with the increase of the concentration of Boltorn H₂O, a branched polymer. Lipkovska et al. (Lipkovska et al., 2014) reported also that a drastic increase in the solubility of flavonoids in the presence of surfactant, miramistin, at concentrations $\geq 1 \cdot 10^{-3}$ M. This increase is more pronounced for hydrophobic compounds (as quercetin) than hydrophilic ones (as rutin). Li et al. (Li et al., 2012) reported that the solubility of polymethoxyflavones (PMF) is significantly enhanced when poly(vinyl alcohol) (PVA) and hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) is added to the preparation.

The positive effect of the addition of an adjuvant is demonstrated also by Martini et al. (Martini et al., 2010) by an investigation of the solubility of formed β -carotene-humic acid complex. They reported that water solubility of β -carotene was strongly increased by its complexation with humic acid.

1.3. Using of solvents mixture

To overcome the drawbacks of the low solubility of flavonoids, the use of mixtures of organic-aqueous solvents (e.g. water-ethanol) was suggested as an alternative (Jouyban, 2007; Stovall et al., 2005).

Ferreira et al. (Ferreira et al., 2013) studied the solubility of hesperitin in different mixtures of solvents. They reported that the solubilities were $0.023 \cdot 10^2 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$; $0.054 \cdot 10^2 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$; $0.381 \cdot 10^2 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ in water + methanol, water + ethanol and water+ acetone, respectively. Those results show that the mixture water-acetone is the best solvent to solubilize hesperitin.

Zhou et al. (Zhou et al., 2014) studied the solubility of chrysin in a binary mixture of ethanol and water at a range of temperature varying from 293.15 to 323.15K and at different ratios between the two used solvents. The obtained results indicate that the solubility of chrysin in ethanol and water mixtures was proportional to the ethanol concentration in the mixture and to the temperature.

Peng and Yan (Peng and Yan, 2010) investigated the evolution of the solubility of luteolin and its anti-inflammatory, antioxidant, and antitumor activities in ethanol and water mixture at 273.15 to 323.15 K and different ratios (from 0 to 1). The best mole fraction solubility was

reached with a ratio of 0.8 of ethanol at 323.2 K. The above results were in accordance with the finding of Cai et al. (Cai et al., 2017) during their study of the solubility of myricitin in a variety of binary mixtures of water and ethanol at different temperatures (288.15 to 323.15 K). They showed that the dissolution is strongly dependent on solvent composition and temperature. The increase of solubility was proportional to the increase of mole fraction of ethanol and temperature. Chebil et al. (Chebil et al., 2013) studied also the solubility of three flavonoids in some common organic solvents used in biocatalyst reactions. They found that quercetin, rutin and isoquercitrin were soluble in 2-methyl-2-butanol (20 ± 0.4 g/L, 36 ± 0.4 g/L and 30 ± 0.9 g/L respectively) and had a poor solubility in acetonitrile (1.7 ± 0.006 g/L, 0.3 ± 0.006 g/L and undetectable respectively).

Recently Tooski et al. (Tooski et al., 2016) reported that for naringenin the solubility in different aqueous solutions containing 0-100 % (v/v) of acetonitrile (ACN) and 1, 4-dioxane (DOX) at a temperature of 25°C is dependant on the solvent ratio. They noticed that preferential solvation parameters Δx for acetonitrile and Δx for 1,4-dioxane are negative in water-rich mixtures and became positive when this ratio is low (from 50 % (v/v) ACN and DOX up to the pure co-solvents).

1.4. Crystallization

- ***Nano – crystallization***

To overcome the poor solubility of small molecules such as flavonoids in solvents (water particularly), the nano crystallization was suggested. In fact, Hecq et al. (Hecq et al., 2005); Müller and Keck (Müller and Keck, 2007); Müller et al. (Müller et al., 1995) reported that the reduction of the particle size of flavonoids can improve their solubility because it contributes to increased saturation solubility, enlarged surface area and increased dissolution velocity. The fundamental basis that size influences the solubility is explained by the Kelvin equation (Buckton and Beezer, 1992). The increase in saturation solubility due to particle size reduction can also be explained by the Ostwald–Freundlich equation. the production of nanoparticles can be achieved by several techniques (Tom and Debenedetti, 1991; Young et al., 2000) like precipitation (List and Sucker, 1988; Sucker and Gassmann, 1994), wet milling (Liversidge and Conzentino, 1995; Liversidge et al., 1992), supercritical fluid process, compressed fluid processes, cryogenic spray-processes, spray-freezing into liquid processes, high pressure homogenization, either in pure water (Müller et al., 1999) or in non-aqueous media and water reduced dispersion media (Müller et al., 2000b) combination of precipitation and subsequent high pressure homogenization (Mauludin et al., 2009).

In view to analyze the effect of flavonoid size on the solubility Mauludin et al. (Mauludin et al., 2009) produced rutin nanosuspensions by high pressure homogenization (HPH) in pure water at room temperature. The obtained suspensions were lyophilized to obtain nanocrystals. It appears that, lyophilized rutin nanocrystals are completely dispersible in water, buffer of pH 1.2 and buffer of pH 6.8 within 15 min. In contrast, only 70% of pure rutin material was dissolved within 15 min in similar conditions (Mauludin et al., 2009). Also, the prepared apigenin nanocrystals, by supercritical antisolvent process, exhibited a high dissolution rate compared to the apigenin coarse powder. Under sink condition (0.1 M PBS 6.8 with 0.5% polysorbate 80), Hatahet et al., (2016) observed only 40% of the apigenin coarse powder is dispersed after 120 min, while, more than 90% is reached only after 20 min for the prepared apigenin nanocrystals.

- ***Co-crystallization***

The Co-crystallisation was used in several works as a mean to favor the dispersion of bioactive compounds characterized by a weak solubility. Smith et al. (Smith et al., 2011) investigate the co-crystallisation of quercetin with caffeine (QUECAF), quercetin-caffeine-methanol (QUECAF 3MeOH), quercetin-isonicotinamide (QUEINM), and quercetin-theobromine dihydrate (QUETBR 3 2H₂O). The obtained crystals exhibit superior pharmacokinetic properties and allowed to overcome the problem due to the low water solubility of quercetin. In fact, the QUECAF and QUECAF 3MeOH cocrystals increased the solubility of quercetin by 14- and 8-fold compared to quercetin solely. Moreover, the bioavailability of co-crystallised quercetin was ten fold higher. The co-crystallization was also studied by (Zhang et al., 2017a). Those authors studied the co-crystallization of kaempferol-4,4'-bipyridine; quercetin-4,4'-bipyridine (1:1.5), genistein - 4,4'-bipyridine and myricetin-4,4'-bipyridine They reported that the co-crystal of genistein allows to arise its solubility from 15.71 µg/mL to 23.44 µg/mL. This finding confirms the interest of co-crystallization as a tool to enhance the solubility of flavonoids.

1.5. Encapsulation

The encapsulation of flavonoids within other molecules was widely studied by several authors. This process consists to coat flavonoids within another material at different sizes (microencapsulation or nanoencapsulation). In view to increase the solubility of lutein in water, Qiu et al., (Qiu et al., 2013) tested monomethoxy poly (ethylene glycol)-poly (ε-caprolactone) (MPEG-PCL) as a coating agent. Those authors observed that encapsulated lutein was released rapidly compared to free lutein.

To encounter the low solubility of quercetin, this flavonoid was encapsulated on poly-d,l-lactide (PLA). Nanoparticles were made by solvent evaporation method. The *in vitro* release studies demonstrated that an average of 40–45% of quercetin was released within 0-0.5 h. This was normally attributed to the fraction of quercetin which was adsorbed close to the surface of the nanoparticles. The maximum release of quercetin was 87.6% after 96 h (Kumari et al., 2010).

Wang et al. (Wang et al., 2014) formed nanoparticles of naringenin employing a biodegradable amphiphilic copolymer: monomethoxy poly (ethylene glycol)-poly(3-caprolactone) (MPEG-PCL). Obtained nanoparticles, showed more than 80% of drug release in 12 hours.

Nanoemulsions can also constitute an alternative to increase the dissolution rate of flavonoids facilitate thus their use in clinical practice (Shikov et al., 2009). Emulsion technology is also another process of encapsulation of bioactive compounds in aqueous solutions (Fang et al., 2010). The encapsulated mixture can either be used directly in the liquid state or dried to form powders.

To perform the solubility in water of taxifolin dehydrate Shikov et al. (Shikov et al., 2009) prepared a nano-particle by adding polyvinylpyrrolidone as a carrier. The obtained complex exhibit superior dispersibility (91% within 30 min and 95% within 45 min) to that of taxifolin taken solely. This enhancement was attributed to both the reduction of particle size and the loss of crystallinity. Roussaki et al. (Roussaki et al., 2014) deduced also that the obtained nanoencapsulated system of aureusidin in PLA can overcome the problems relating to aureusidin's water solubility, light sensitivity without any loss in its biological activities. Chen et al. 2017 (Chen et al., 2017) reported the encapsulation of quercetin (Q) in phytyglycogen (PG) at different PG/Q ratios. They reported that the solubility of quercetin reached 241.76 $\mu\text{g/mL}$ at PG/QC ratio of 30/1 compared with approximately 4.32 $\mu\text{g/mL}$ of quercetin alone. In nanocapsules of lipid, the apparent water solubility of quercetin increased by more than 5000 fold (from 0.5 $\mu\text{g/mL}$ to about 5 mg/mL) (Hatahet et al., 2017).

2. Solubility studies by molecular and mesoscale modeling simulations

In the literature, molecular and mesoscale methods were mainly used as tool to predict stability, solubility and structural organization of small molecules in different solvents with or without use of adjuvants (encapsulation, crystallization, agglomeration, add of adjuvants...).

The characterization of the above mentioned criterion are obtained in one hand, via the determination of Flory Huggins Parameters by applying molecular dynamics (the solubility parameter method) or the Monte Carlo method (the mixing energy method) and in another hand, by the use of mesoscale methods such as the dissipative particle dynamics DPD to understand miscibility between the different beads of the system or the Mean Field Density Functional theory MFDFFT method to show the possible aggregation or dispersion of different solutes in the studied system.

2.1. Solubility studies by molecular modeling simulations

The solubility of a given molecule in water or in organic solvents is a very important property for pharmaceutical, food and chemical formulations. The experimental determination of the solubility of organic molecules, especially flavonoids, is unfortunately very tedious. For this reason, few data are available in the literature concerning the solubility of flavonoids in organic solvents. A lot of time could be saved if the solubility could accurately be predicted by modeling. The common practice to predict the solubility of organic compound is to establish experimentally of a Quantitative Structure-Property Relationship (QSAR). In such methods the solubility is correlated to number of properties for a set of molecules. Thus, the prediction of the solubility of a new molecule is obtained by introducing its properties into the developed data base. The QSAR methods are often rapid and can be accurate if the new molecule is similar to those studied to establish the QSAR correlation and if the molecular simulations are carried out in the same experimental environments. As an example of correlation between the solubility and structural properties of flavonoids, Chebil et al. 2007 (Chebil et al., 2007) showed that the absence of a double bond between C2 and C3 led to a torsion angle ($\text{OC2C1}'\text{C6}'$) of flavonoids (naringenin and hesperetin) of about 40° and to a high solubility in acetonitrile.

Another approach to predict the solubility is to carry out molecular simulations to calculate the chemical potential of the molecule according to each concentration in the solution. The solubility of a given molecule corresponds to the concentration at equilibrium, i.e., when the equality of the chemical potential is reached between phases. The chemical potential of a given molecule is the change of Gibbs free energy when, at constant temperature and pressure, a supplementary molecule is added to the solid phase and solution, respectively. This change of the free energy level is computed by using the Free Energy of Perturbation (FEP) method for both the solution and the amorphous phase. For the crystalline phase, the

FEP method is not applicable. But there are other alternatives to calculate the chemical potential for crystalline state.

This approach is used by Chebil et al. 2010 (Chebil et al., 2010) to investigate the effect of the environmental condition on the solubility of quercetin. Thus, the solubility of this compound was evaluated in acetonitrile, 2-methyl-2-butanol, acetone, chloroform and water. Molecular dynamics were performed to deduce the most stable structures and compute the free energies of solvation (ΔG_{SOLV}) by the FEP method. As it is indicated in Figure I.2, the ΔG_{SOLV} calculated fit well the experimental solubility of quercetin in various solvents, i.e. chloroform < eau < acetonitrile < 2-methyl-2-butanol \approx acetone, with values going from -18 to -29 kcal/mol.

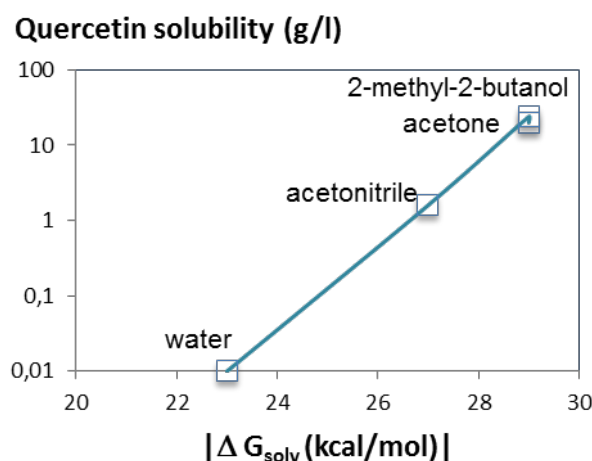


Figure I.2 : Correlation between solubility and energy of solvation (ΔG_{SOLV}) of quercetin in various solvents

The free energy of solvation at a temperature T for any compound can be related to its solubility (c) through equation I.1.

$$c = c_A \exp\left(-\frac{\Delta G_{\text{SOLV}}}{RT}\right) \quad (\text{I.1})$$

where c_A is the solubility of the pure crystal matter at T.

Chebil et al. (Chebil et al., 2010) showed that the predicted solubilities reported in Table I.5 are all within 0.5 log unit of the corresponding experimental values, irrespective of the reference solvent. Their reliability embraces three contributions (i) the accuracy of the experimental reference solubility, (ii) the relevance of the force field for the description of quercetin-solvent interactions, and (iii) both the precision and the accuracy of the computed solvation free energies.

Table I.5 : Experimental and calculated solubilities (c, mol/L) at 323 K of quercetin in chloroform, water, acetonitrile, acetone, and 2-methyl-2-butanol

	chloroform	water	acetonitrile	acetone	2-methyl-2-butanol
log C_{exp}	insoluble ^a	-4,52 ^a	-2,27 ^b	-1,10 ^b	-1,17 ^b
ΔG_{solv}	-18,44±0,18	-23,52±0,19	-27,52±0,28	-28,99±0,38	-28,88±0,26
log C_{calc}	-8,02	reference	-1,82	-0,81	-0,89
	-8,43	-4,98	reference	-1,27	-1,34
	-8,25	-4,80	-2,09	reference	-1,17
	-8,26	-4,81	-2,10	-1,10	reference

^a Measured from the protocol of Chebil et al. 2007. ^b Chebil et al. 2007. ΔG_{solv} (kcal/mol)

In the same work, the authors explain the high solubility of quercetin in acetone and 2-methyl-2-butanol by the probability distributions showed in Figure I.3. It suggests that the enhanced solvation of quercetin by acetone and 2-methyl-2-butanol stems from more pronounced hydrophobic and hydrophilic interactions, respectively, compared to the case for acetonitrile.

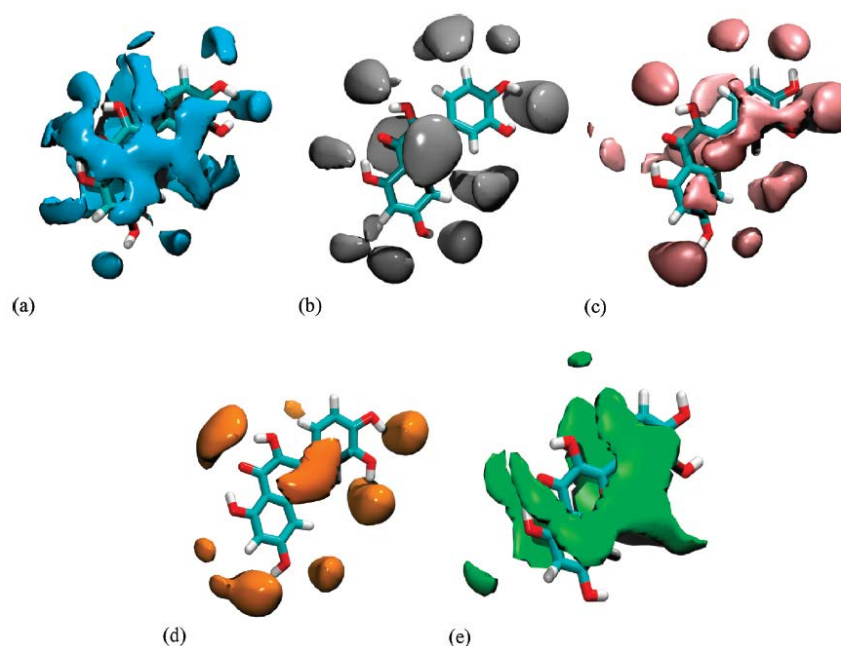


Figure I.3 : Contour maps of the solvent density around quercetin: (a) water; (b) acetonitrile; (c) acetone; (d) 2-methyl-2-butanol; (e) chloroform

For flavonoid oligomers, Anthoni et al. (Anthoni et al., 2010) studied by molecular dynamics the conformation of monomer and oligomers of rutin in water. They explain the high solubility of oligomers, compared to monomer, by an open configuration of oligomers which be able to interact with water via hydrogen bound network.

Predictions of the solubility of flavonoids in a large variety of ionic liquids (ILs) with over 1800 available structures were examined based on COSMO-RS computation by Anthony et al. (Anthony et al., 2007). The results show that the solubilities of flavonoids are strongly anion-dependent. H-bonding interaction is the most dominant interaction for ILs (followed by misfit and van der Waals interactions) to determine the solubility of flavonoids, and the anionic part has greater effect on the overall H-bonding capability of the IL.

Besides its role on predicting thermodynamic miscibility of a polymer and a small molecule in a binary mixture, the Flory-Huggins interaction parameter was found to be a quite good tool for predicting the phase stability of small molecules mixtures (Pajula et al., 2010). By using the molecular tools, this parameter can be an efficient way to choose rapidly and efficiently the mixture of small molecules or drugs to be used for a given preparation.

The Monte Carlo method can be used to predict Flory Huggins parameter in order to estimate the miscibility behavior of binary mixtures, such as solvent–solvent, polymer–solvent and polymer– polymer mixtures. The thermodynamics of mixing can be obtained directly from the chemical structures of the two components and, therefore, requires only their molecular structures and a force field as input. Particularly, Blends module in the Materials Studio Program is well known and commonly used for this purpose.

Blends provide three tasks to the user for calculating binding energy, cluster size and mixing energy. The main calculation in Blends consists of estimating the average energy between two molecules in contact at a given temperature. From the binding energies and cluster sizes, the mixing energy can be obtained, which leads to the Flory–Huggins interaction parameter, χ (Akkermans et al., 2013).

The work of Otto et al. in 2013 was one of the scarce works dealing with mesoscale modeling of flavonoids. They used the blends module to predict the solubility of different beads of quercetin, a very interesting flavonoid, in water in presence of poly ethylene glycol (PEG). As an example, they found that the Flory Huggins parameter for the quercetin benzene ring and the bead of polymer had a value of 0.225, which means a good miscibility (Otto et al., 2013). They used those values for further calculations to explain different phenomena observed.

Depending of the mixing energy of different small compounds, Pajula et al. (Pajula et al., 2010) calculated the Flory Huggins parameter for different binary mixtures. They've verified experimentally the obtained results and concluded that this parameter can give coherent results to predict miscibility of different blends of small molecules.

Many properties of polymers can be related to the Hildebrand solubility parameter δ , which is proportional to the square root of the cohesive energy density. This parameter defines the intra- and intermolecular forces of an element. It can also be defined on the base of the individual Hildebrand parameters describing two contributions to the cohesive energy, namely, the non-polar Van der Waals dispersion forces δ_d , and the polar interactions δ_p (Barton et al., 1983).

Jarray et al. (Jarray et al., 2016) predicted the miscibility of different binary mixtures via this method in water.

In another study Xu et al. (Xu et al., 2016), employed molecular dynamics (MD) to quantify the Flory Huggins parameters between the poly lactic acid (PLA) and poly glycolic acid (PGA) and a pharmaceutical drug, the tetracycline-HCl (TC-HCl), to elucidate the interaction between the drug and PLGA polymers. They tried to understand the miscibility behavior of the drugs by varying the composition of the polymer. One of the obtained results was that the mixing of PLA and PGA polymers is not thermodynamically favorable throughout the entire composition range of 10/90 to 90/10 wt% PLA/PGA.

In the works of Jawalkar and Aminabhavi (Jawalkar et Aminabhavi, 2006) Flory Huggins interaction parameter, was computed for different blends using atomistic simulations to predict the miscibility of each blend combination. It was found that at 1:9 blend of PLL/PVA, miscibility was observed, but increasing immiscibility was prevalent at higher compositions of PLL. Miscibility of PLL and PVA polymers is attributed to hydrogen-bonding effect.

Jawalkar and Aminabhavi (Jawalkar et Aminabhavi, 2006) determined the Flory Huggins interaction parameter to predict blend miscibility of a mixture of polymers composed by poly(L-lactide) and poly(vinyl alcohol). They deduced that blends are miscible above 25 Wt % of poly(L-lactide) and immiscible for the other combinations. In fact they found a Flory Huggins value of 0.143 which was below the Flory Huggins parameter critical value for 1:9 Poly (L-lactide) / poly (vinyl alcohol) blend system.

2.2. Solubility studies by mesoscale simulations

• *Interaction phenomena explained by the dissipative particle dynamics DPD*

Dissipative Particle Dynamics simulation DPD is a simulation method introduced by Hoogerbrugge and Koelman in 1992 (Hoogerbrugge and Koelman, 1992). It is derived from molecular dynamics simulations and lattice gas automata. It has the advantage of increasing

the mesoscopic length and time for complex fluid simulations. A bead represents a small region of fluid matter and its motion is assumed to be governed by Newton's laws.

Jarray et al. (Jarray et al., 2016) studied the stabilization of stearic acid crystals in aqueous polymeric dispersions via the dissipative particle dynamics method. They reported that the hydroxypropylmethylcellulose HPMC was able to interact with stearic acid particles by forming a polymer layer and thus produce stable particles in water (Jarray et al., 2016).

- ***Separation and aggregation phenomena explained by the MFDFT method***

The MesoDyn method is based on the time-dependent mean-field density functional theory. It is based on the idea that the free energy F of an inhomogeneous liquid is a function of the local density function ρ . From the free energy, all thermodynamic functions can be derived.

In order to understand interactions between macromolecules and surfactants (Xanthan and Nonyphenyloxypropyl β -Hydroxyltrimethylammonium Bromide), Li et al. (Li et al., 2005) used this method to observe the process of aggregation formation and aggregation morphology in water. They deduced that this mesoscale-modeling approach is a good indicator for macromolecule and surfactant behavior in water. They found that aggregation occurred and that it depends from the concentration and the temperature. In fact, beyond 20vol % of xanthan interaction and so aggregation becomes difficult.

Li et al. (Li et al., 2007) used also this approach in the aim to understand the aggregations between anionic carboxymethylchitosan and cetyltrimethylammonium bromide. They indicated that the aggregations were formed even at low concentrations of surfactants due to electrostatic attractions and concluded that MesoDyn was a good indicator to follow the aggregation behavior at different concentrations in water.

Otto et al. (Otto et al., 2013) also used this method to understand and to control the aggregation phenomena occurred between quercetin and PEG. They indicated that the aggregation was proportional to quercetin and PEG concentration.

Conclusion

Many authors were interested in the solubility of phenolic compounds and particularly flavonoids over the years. Those molecules are characterized by an excellent antioxidant properties but they exhibit low stability and solubility and thus render their formulation not easy and their bio-availability weak. This review presents and discusses the different methods developed to increase flavonoids solubilities, stabilities and availabilities. Those methods use solely or in combination several techniques: chemical, physical, and enzymatic. The performance of those techniques is effective and allows to increase the bioactive properties and their stability under different physico-chemical environment. Besides the experimental approach, molecular and mesoscale modeling were also used to understand solubility and stability issues by highlighting the interactions occurred during the formulation and by identifying the parts implicated in those interactions. This methodology allows also to predict their compartment in different solvents alone or with other molecules. These two approaches (experimental and modeling) are complementary and will be used in combination to overcome the low solubility of flavonoids and to understand the mechanisms behind those interactions.

References

1. Akkermans, Reinier L. C., Neil A. Spenley, and Struan H. Robertson. 2013. "Monte Carlo Methods in Materials Studio." *Molecular Simulation* 39 (14–15):1153–64.
2. Anthoni, Julie. "Synthèse enzymatique, modélisation moléculaire et caractérisation d'oligomères de flavonoïdes".2007.
3. Althans, Daniel, Philipp Schrader, and Sabine Enders. "Solubilisation of Quercetin: Comparison of Hyperbranched Polymer and Hydrogel." *Journal of Molecular Liquids* 196 (August 2014): 86–93.
4. Alvarez-Parrilla, E., L. A. De la Rosa, F. Torres-Rivas, J. Rodrigo-Garcia, and G. A. Gonzalez-Aguilar. "Complexation of Apple Antioxidants: Chlorogenic Acid, Quercetin and Rutin by Beta-Cyclodextrin (Beta-CD)." *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 53, no. 1–2 (October 2005): 121–29.
5. Amor, Ilef Limem-Ben, Alain Hehn, Emmanuel Guedon, Kamel Ghedira, Jean-Marc Engasser, Leila Chekir-Ghedrira, and Mohamed Ghoul. "Biotransformation of Naringenin to Eriodictyol by *Saccharomyces Cerevisiae* Functionally Expressing Flavonoid 3- α -Hydroxylase." *Natural Product Communications* 5, no. 12 (December 2010): 1893–98.
6. Anthoni, Julie, Catherine Humeau, Elaine Rose Maia, Latifa Chebil, Jean-Marc Engasser, and Mohamed Ghoul. "Enzymatic Synthesis of Oligoesculin: Structure and Biological Activities Characterizations." *European Food Research and Technology* 231, no. 4 (August 2010): 571–79.
7. Anwer, Md Khalid, and Faiyaz Shakeel. "Measurement and Correlation of Solubility of Diosmin in Four Pure Solvents and β -Cyclodextrin Solution at 298.15K to 333.15K." *Chinese Journal of Chemical Engineering* 23, no. 5 (May 1, 2015): 812–15.
8. Araujo, Maria Elisa M. B. de, Yollanda E. M. Franco, Marcia C. F. Messias, Giovanna B. Longato, Joao A. Pamphile, and Patricia de O. Carvalho. "Biocatalytic Synthesis of Flavonoid Esters by Lipases and Their Biological Benefits." *Planta Medica* 83, no. 1–2 (January 2017): 7–22.
9. Ardhaoui, M., A. Falcimaigne, J. M. Engasser, P. Moussou, G. Pauly, and M. Ghoul. "Acylation of Natural Flavonoids Using Lipase of *Candida Antarctica* as Biocatalyst." *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* 29, no. 1–6 (June 21, 2004): 63–67.
10. Barton, Allan F. M. *CRC Handbook of Solubility Parameters and Other Cohesion Parameters*, Second Edition. CRC Press, 1991.
11. Brewster, Marcus E., and Thorsteinn Loftsson. "Cyclodextrins as Pharmaceutical Solubilizers." *Advanced Drug Delivery Reviews* 59, no. 7 (July 30, 2007): 645–66.
12. Bruno, Ferdinando F., Adam Trotta, Stephen Fossey, Subhalakshmi Nagarajan, Ramaswamy Nagarajan, Lynne A. Samuelson, and Jayant Kumar. "Enzymatic Synthesis and Characterization of PolyQuercetin." *Journal of Macromolecular Science Part a-Pure and Applied Chemistry* 47, no. 12 (2010): 1191–96.
13. Buckton, G., and Ae Beezer. "The Relationship Between Particle-Size and Solubility." *International Journal of Pharmaceutics* 82, no. 3 (May 25, 1992): R7–10.
14. Cai, Shaona, Peipei Zhang, Li Zhou, Ting Jing, Huihui Fan, Rong Lin, Guangde Yang, Weirong Wang, and Jiye Zhang. "Determination and Correlation of the

Solubility of Myricetin in Ethanol and Water Mixtures from 288.15 to 323.15K.” *Physics and Chemistry of Liquids* 55, no. 1 (2017): 27–37.

15. Calabro, M. L., S. Tommasini, P. Donato, D. Raneri, R. Stancanelli, P. Ficarra, R. Ficarra, et al. “Effects of Alpha and Beta-Cyclodextrin Complexation on the Physico-Chemical Properties and Antioxidant Activity of Some 3-Hydroxyflavones.” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 35, no. 2 (April 16, 2004): 365–77.

16. Calias, P., T. Galanopoulos, M. Maxwell, A. Khayat, D. Graves, H. N. Antoniadis, and M. dAlarcao. “Synthesis of Inositol 2-Phosphate-Quercetin Conjugates.” *Carbohydrate Research* 292 (October 4, 1996): 83–90.

17. Celiz, G., M. C. Audisio, and M. Daz. “Antimicrobial Properties of Prunin, a Citric Flavanone Glucoside, and Its Prunin 6 -O-Lauroyl Ester.” *Journal of Applied Microbiology* 109, no. 4 (October 2010): 1450–57.

18. Chebil, Latifa, Mohamed Bouroukba, Claire Gaiani, Celine Charbonel, Marwa Khaldi, Jean-Marc Engasser, and Mohamed Ghoul. “Elucidation of the Kinetic Behavior of Quercetin, Isoquercitrin, and Rutin Solubility by Physicochemical and Thermodynamic Investigations.” *Industrial & Engineering Chemistry Research* 52, no. 4 (January 30, 2013): 1464–70.

19. Chebil, Latifa, Christophe Chipot, Fabien Archambault, Catherine Humeau, Jean Marc Engasser, Mohamed Ghoul, and Francois Dehez. “Solubilities Inferred from the Combination of Experiment and Simulation. Case Study of Quercetin in a Variety of Solvents.” *Journal of Physical Chemistry B* 114, no. 38 (September 30, 2010): 12308–13.

20. Chebil, Latifa, Catherine Humeau, Julie Anthoni, Francois Dehez, Jean-Marc Engasser, and Mohamed Ghoul. “Solubility of Flavonoids in Organic Solvents.” *Journal of Chemical and Engineering Data* 52, no. 5 (October 2007): 1552–56.

21. Chebil, Latifa, Catherine Humeau, Aude Falcimaigne, Jean-Marc Engasser, and Mohamed Ghoul. “Enzymatic Acylation of Flavonoids.” *Process Biochemistry* 41, no. 11 (November 2006): 2237–51.

22. Chen, Hua, and Yuan Yao. “Phytoglycogen Improves the Water Solubility and Caco-2 Monolayer Permeation of Quercetin.” *Food Chemistry* 221 (April 15, 2017): 248–57.

23. Chen, Wen-Huei, Chi-Yin Hsu, Hao-Yun Cheng, Hsiang Chang, Hong-Hwa Chen, and Mang-Jye Ger. “Downregulation of Putative UDP-Glucose: Flavonoid 3-O-Glucosyltransferase Gene Alters Flower Coloring in *Phalaenopsis*.” *Plant Cell Reports* 30, no. 6 (June 2011): 1007–17.

24. Choung, Woo-Jae, Seung Hwan Hwang, Dam-Seul Ko, Set Byeol Kim, Seo Hyun Kim, Sung Ho Jeon, Hee-Don Choi, Soon Sung Lim, and Jae-Hoon Shim. “Enzymatic Synthesis of a Novel Kaempferol-3-O-Beta-D-glucopyranosyl(1 -> 4)-O-Alpha-D-Glucopyranoside Using Cyclodextrin Glucanotransferase and Its Inhibitory Effects on Aldose Reductase, Inflammation, and Oxidative Stress.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 65, no. 13 (April 5, 2017): 2760–67.

25. Falcimaigne-Cordin, Aude, “Etude d’un procédé de production enzymatique des esters de flavonoïdes: cinétique, purification, étude conformationnelle et caractérisation des propriétés physico-chimiques et biologiques,” 2004.

26. Fang, F. F., Y. D. Liu, and H. J. Choi. “Synthesis and Electrorheological Characteristics of Polyaniline/Organoclay Nanoparticles via Pickering Emulsion Polymerization.” *Smart Materials and Structures* 19, no. 12 (December 2010): 124002.

27. Ferreira, Livia Rosas, Juliana Alves Macedo, Marcelo Lima Ribeiro, and Gabriela Alves Macedo. "Improving the Chemopreventive Potential of Orange Juice by Enzymatic Biotransformation." *Food Research International* 51, no. 2 (May 2013): 526–35.
28. Liversidge, Gary, and Phil Conzentino. "Drug Particle Size Reduction for Decreasing Gastric Irritancy and Enhancing Absorption of Naproxen in Rats." *International Journal of Pharmaceutics* 125 (October 1, 1995): 309–13.
29. Gao, C. L., P. Mayon, D. A. MacManus, and E. N. Vulfson. "Novel Enzymatic Approach to the Synthesis of Flavonoid Glycosides and Their Esters." *Biotechnology and Bioengineering* 71, no. 3 (August 5, 2001): 235–43.
30. Gao, Da-Fang, Ying-Jun Zhang, Chong-Ren Yang, Ke-Ke Chen, and Hong-Jian Jiang. "Phenolic Antioxidants from Green Tea Produced from *Camellia Taliensis*." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, no. 16 (August 27, 2008): 7517–21.
31. "GB 2200048 A - pharmaceutical colloidal hydrosols for injection the lens." *The Lens*. Accessed November 5, 2017.
32. Gill, I., and R. Valivety. "Enzymatic Glycosylation in Plasticized Glass Phases: A Novel and Efficient Route to O-Glycosides." *Angewandte Chemie-International Edition* 39, no. 21 (2000): 3804–+.
33. Glässgen, W. E., V. Wray, D. Strack, J. W. Metzger, and H. U. Seitz. "Anthocyanins from Cell Suspension Cultures of *Daucus Carota*." *Phytochemistry* 31, no. 5 (May 1992): 1593–1601.
34. Gurung, Rit Bahadur, Eun-Hee Kim, Tae-Jin Oh, and Jae Kyung Sohng. "Enzymatic Synthesis of Apigenin Glucosides by Glucosyltransferase (YjiC) from *Bacillus Licheniformis* DSM 13." *Molecules and Cells* 36, no. 4 (October 2013): 355–61.
35. Han, Ting, Gang Cheng, Ying Liu, Hong Yang, Yu-tao Hu, and Wen Huang. "In Vitro Evaluation of Tectoridin, Tectorigenin and Tectorigenin Sodium Sulfonate on Antioxidant Properties." *Food and Chemical Toxicology* 50, no. 2 (February 2012): 409–14.
36. Hatahet, T., M. Morille, A. Hommoss, C. Dorandeu, R. H. Müller, and S. Bégu. "Dermal Quercetin smartCrystals®: Formulation Development, Antioxidant Activity and Cellular Safety." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 102 (May 2016): 51–63.
37. Hatahet, T., M. Morille, A. Shamseddin, A. Aubert-Pouessel, J. M. Devoisselle, and S. Bégu. "Dermal Quercetin Lipid Nanocapsules: Influence of the Formulation on Antioxidant Activity and Cellular Protection against Hydrogen Peroxide." *International Journal of Pharmaceutics* 518, no. 1–2 (February 25, 2017): 167–76.
38. Hecq, J., M. Deleers, D. Fanara, H. Vranckx, and K. Amighi. "Preparation and Characterization of Nanocrystals for Solubility and Dissolution Rate Enhancement of Nifedipine." *International Journal of Pharmaceutics* 299, no. 1–2 (August 11, 2005): 167–77.
39. Hollman, Pch, Jhm Devries, Sd Vanleeuwen, Mjb Mengelers, and Mb Katan. "Absorption of Dietary Quercetin Glycosides and Quercetin in Healthy Ileostomy Volunteers." *American Journal of Clinical Nutrition* 62, no. 6 (December 1995): 1276–82.
40. Hoogerbrugge, PJ, and Jmva Koelman. "Simulating microscopic hydrodynamic phenomena with dissipative particle dynamics." *Europhysics Letters* 19, no. 3 (June 1, 1992): 155–60.

41. Jarray, A., V. Gerbaud, and M. Hemati. "Structure of Aqueous Colloidal Formulations Used in Coating and Agglomeration Processes: Mesoscale Model and Experiments." *Powder Technology* 291 (avril 2016): 244–61.
42. Jawalkar, Sheetal S., and Tejraj M. Aminabhavi. "Molecular Modeling Simulations and Thermodynamic Approaches to Investigate Compatibility/Incompatibility of poly(L-Lactide) and Poly(vinyl Alcohol) Blends." *Polymer* 47, no. 23 (October 30, 2006): 8061–71.
43. Jouyban, A., Sh Soltanpour, S. Soltani, H. K. Chan, and W. E. Acree. "Solubility Prediction of Drugs in Water-Cosolvent Mixtures Using Abraham Solvation Parameters." *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 10, no. 3 (August 2007): 263–77.
44. Kobayashi, S., H. Uyama, H. Tonami, T. Oguchi, H. Higashimura, R. Ikeda, and M. Kubota. "Regio- and Chemo-Selective Polymerization of Phenols Catalyzed by Oxidoreductase Enzyme and Its Model Complexes." *Macromolecular Symposia* 175 (August 2001): 1–10.
45. Kumari, Avnesh, Sudesh Kumar Yadav, Yogesh B. Pakade, Bikram Singh, and Subhash Chandra Yadav. "Development of Biodegradable Nanoparticles for Delivery of Quercetin." *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* 80, no. 2 (October 15, 2010): 184–92.
46. Kurisawa, M., J. E. Chung, H. Uyama, and S. Kobayashi. "Enzymatic Synthesis and Antioxidant Properties of Poly(rutin)." *Biomacromolecules* 4, no. 5 (October 2003): 1394–99.
47. Kurisawa, M., J. E. Chung, H. Uyama, and S. Kobayashi. "Laccase-Catalyzed Synthesis and Antioxidant Property of Poly(catechin)." *Macromolecular Bioscience* 3, no. 12 (December 12, 2003): 758–64.
48. Lee, S. H., and S. H. Jung. "C-13 NMR Spectroscopic Analysis on the Chiral Discrimination of N-Acetylphenylalanine, Catechin and Propranolol Induced by Cyclic-(1 -> 2)-Beta-D-Glucans (Cyclosphoraoses)." *Carbohydrate Research* 337, no. 19 (October 11, 2002): 1785–89.
49. Lee, S. H., D. H. Seo, H. L. Park, Y. J. Choi, and S. H. Jung. "Solubility Enhancement of a Hydrophobic Flavonoid, Luteolin by the Complexation with Cyclosphoraoses Isolated from *Rhizobium Meliloti*." *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology* 84, no. 3 (2003): 201–7.
50. Li, D., S. H. Park, J. H. Shim, H. S. Lee, S. Y. Tang, C. S. Park, and K. H. Park. "In Vitro Enzymatic Modification of Puerarin to Puerarin Glycosides by Maltogenic Amylase." *Carbohydrate Research* 339, no. 17 (December 6, 2004): 2789–97.
51. Li, Y. M., G. Y. Xu, A. M. Chen, S. L. Yuan, and X. R. Cao. "Aggregation between Xanthan and Nonyphenyloxypropyl β -Hydroxyltrimethylammonium Bromide in Aqueous Solution: MesoDyn Simulation and Binding Isotherm Measurement." *The Journal of Physical Chemistry B* 109, no. 47 (December 1, 2005): 22290–95.
52. Li, Yan, Hang Xiao, and David Julian McClements. "Encapsulation and Delivery of Crystalline Hydrophobic Nutraceuticals Using Nanoemulsions: Factors Affecting Polymethoxyflavone Solubility." *Food Biophysics* 7, no. 4 (December 2012): 341–53.
53. Lipinski, C. A., F. Lombardo, B. W. Dominy, and P. J. Feeney. "Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery

and Development Settings.” *Advanced Drug Delivery Reviews* 46, no. 1–3 (March 1, 2001): 3–26.

54. Lipkovska, N. A., V. N. Barvinchenko, and T. V. Fedyanina. “Dependence of the Solubility of Natural Flavonoids in Water on the Concentration of Miramistin, Polyvinylpyrrolidone, and Human Serum Albumin.” *Russian Journal of Physical Chemistry A* 88, no. 5 (May 2014): 881–85.

55. “List M, Sucker, H. Pharmaceutical Colloidal Hydrosols for Injection. GB Patent 1988;2200048,” n.d.

56. Liu, Taiming, Zhuo Chen, Yuyi Guo, Xuehua Jiang, and Guo Ma. “Determination of Tectoridin in Rat Plasma by High-Performance Liquid Chromatography and Its Application to Pharmacokinetic Studies.” *Biomedical Chromatography* 23, no. 7 (July 2009): 754–58.

57. Lue, Bena-Marie, Zheng Guo, and Xuebing Xu. “Effect of Room Temperature Ionic Liquid Structure on the Enzymatic Acylation of Flavonoids.” *Process Biochemistry* 45, no. 8 (August 2010): 1375–82.

58. Majumdar, Soumyajit, and Ramesh Srirangam. “Solubility, Stability, Physicochemical Characteristics and in Vitro Ocular Tissue Permeability of Hesperidin: A Natural Bioflavonoid.” *Pharmaceutical Research* 26, no. 5 (May 2009): 1217–25.

59. Malbert, Yannick, Sandra Pizzut-Serin, Stephane Massou, Emmanuelle Cambon, Sandrine Laguerre, Pierre Monsan, Francois Lefoulon, Sandrine Morel, Isabelle Andre, and Magali Remaud-Simeon. “Extending the Structural Diversity of Alpha-Flavonoid Glycosides with Engineered Glucansucrases.” *Chemcatchem* 6, no. 8 (August 2014): 2282–91.

60. Martini, Silvia, Claudia D’Addario, Claudia Bonechi, Gemma Leone, Antonio Tognazzi, Marco Consumi, Agnese Magnani, and Claudio Rossi. “Increasing Photostability and Water-Solubility of Carotenoids Synthesis and Characterization of Beta-Carotene-Humic Acid Complexes.” *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* 101, no. 3 (December 2, 2010): 355–61.

61. Matwiejuk, Martin, and Joachim Thiem. “New Method for Regioselective Glycosylation Employing Saccharide Oxyanions.” *European Journal of Organic Chemistry*, no. 29 (October 2011): 5860–78.

62. Mauludin, Rachmat, Rainer H. Mueller, and Cornelia M. Keck. “Kinetic Solubility and Dissolution Velocity of Rutin Nanocrystals.” *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 36, no. 4–5 (March 2, 2009): 502–10.

63. Muller, Rainer Helmut, Karsten Krause, and Karsten Mader. Method for controlled production of ultrafine microparticles and nanoparticles. CA2375992 C, filed July 10, 2000, and issued May 27, 2014.

64. Murota, K., S. Shimizu, H. Chujo, J. H. Moon, and J. Terao. “Efficiency of Absorption and Metabolic Conversion of Quercetin and Its Glucosides in Human Intestinal Cell Line Caco-2.” *Archives of Biochemistry and Biophysics* 384, no. 2 (December 15, 2000): 391–97.

65. Otto, Daniel P., Anja Otto, and Melgardt M. de Villiers. “Experimental and Mesoscale Computational Dynamics Studies of the Relationship between Solubility and Release of Quercetin from PEG Solid Dispersions.” *International Journal of Pharmaceutics* 456, no. 2 (November 18, 2013): 282–92.

66. Pajula, Katja, Markku Taskinen, Vesa-Pekka Lehto, Jarkko Ketolainen, and Ossi Korhonen. "Predicting the Formation and Stability of Amorphous Small Molecule Binary Mixtures from Computationally Determined Flory-Huggins Interaction Parameter and Phase Diagram." *Molecular Pharmaceutics* 7, no. 3 (June 2010): 795–804.
67. Peng, Bin, and Weidong Yan. "Solubility of Luteolin in Ethanol plus Water Mixed Solvents at Different Temperatures." *Journal of Chemical and Engineering Data* 55, no. 1 (January 2010): 583–85.
68. Pulley, George N. "Solubility of Naringin in Water." *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition* 8, no. 5 (September 1, 1936): 360–360.
69. Qiu, Dongfang, Kecheng Liu, Zhujin Jiao, Qunzeng Huang, Hengzhen Shi, and Min Li. "Quercetin-Sensitized TiO₂ Film: Photocatalytic Inhibition of *Helminthosporium Maydis* under Visible Light Irradiation." *Materials Letters* 97 (April 15, 2013): 21–23.
70. Ragelle, Héloïse, Sylvie Crauste-Manciet, Johanne Seguin, Denis Brossard, Daniel Scherman, Philippe Arnaud, and Guy G. Chabot. "Nanoemulsion Formulation of Fisetin Improves Bioavailability and Antitumour Activity in Mice." *International Journal of Pharmaceutics* 427, no. 2 (May 10, 2012): 452–59.
71. Rainer H. Muller, Robert Becker, Bernd Kruss, Katrin Peters, (Prénom). Pharmaceutical nanosuspensions for medicament administration as systems with increased saturation solubility and rate of solution, n.d.
72. Razmara, Reza S., Ali Daneshfar, and Reza Sahraei. "Solubility of Quercetin in Water plus Methanol and Water plus Ethanol from (292.8 to 333.8) K." *Journal of Chemical and Engineering Data* 55, no. 9 (September 2010): 3934–36.
73. Ren, Guangxiang, Jingli Hou, Qinghong Fang, Hong Sun, Xiaoyan Liu, Lianwen Zhang, and Peng George Wang. "Synthesis of Flavonol 3-O-Glycoside by UGT78D1." *Glycoconjugate Journal* 29, no. 5–6 (August 2012): 425–32.
74. Rothwell, J. A., A. J. Day, and M. R. A. Morgan. "Experimental Determination of Octanol-Water Partition Coefficients of Quercetin and Related Flavonoids." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, no. 11 (June 1, 2005): 4355–60.
75. Roussaki, M., A. Gaitanarou, P. Ch Diamanti, S. Vouyiouka, C. Papaspyrides, P. Kefalas, and A. Detsi. "Encapsulation of the Natural Antioxidant Aureusidin in Biodegradable PLA Nanoparticles." *Polymer Degradation and Stability* 108 (October 2014): 182–87.
76. Ruan, Li-Ping, Bo-Yang Yu, Guang-Miao Fu, and Dan-Ni Zhu. "Improving the Solubility of Ampelopsin by Solid Dispersions and Inclusion Complexes." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 38, no. 3 (July 1, 2005): 457–64.
77. Semalty, Ajay, Mona Semalty, Devendra Singh, and M. S. M. Rawat. "Preparation and Characterization of Phospholipid Complexes of Naringenin for Effective Drug Delivery." *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 67, no. 3–4 (August 2010): 253–60.
78. Shikov, Alexander N., Olga N. Pozharitskaya, Inna Miroshnyk, Sabiruddin Mirza, Irina N. Urakova, Samuli Hirsjarvi, Valery G. Makarov, Jyrki Heinamaki, Jouko Yliruusi, and Raimo Hiltunen. "Nanodispersions of Taxifolin: Impact of Solid-State Properties on Dissolution Behavior." *International Journal of Pharmaceutics* 377, no. 1–2 (July 30, 2009): 148–52.

79. Smith, Adam J., Padmini Kavuru, Lukasz Wojtas, Michael J. Zaworotko, and R. Douglas Shytle. "Cocrystals of Quercetin with Improved Solubility and Oral Bioavailability." *Molecular Pharmaceutics* 8, no. 5 (October 2011): 1867–76.
80. Son, Mi Hye, Bong-Gyu Kim, Dae Hwan Kim, Mirim Jin, Kwangpyo Kim, and Joong-Hoon Ahn. "Production of Flavonoid O-Glucoside Using Sucrose Synthase and Flavonoid O-Glucosyltransferase Fusion Protein." *Journal of Microbiology and Biotechnology* 19, no. 7 (July 2009): 709–12.
81. Sowa, Michal, Katarzyna Slepokura, and Ewa Matczak-Jon. "Improving Solubility of Fisetin by Cocrystallization." *Crystengcomm* 16, no. 46 (2014): 10592–601.
82. Srinivas, Keerthi, Jerry W. King, Luke R. Howard, and Jeana K. Monrad. "Solubility and Solution Thermodynamic Properties of Quercetin and Quercetin Dihydrate in Subcritical Water." *Journal of Food Engineering* 100, no. 2 (September 2010): 208–18.
83. Srinivas, Keerthi, Jerry W. King, Luke R. Howard, and Jeana K. Monrad. "Solubility of Gallic Acid, Catechin, and Protocatechuic Acid in Subcritical Water from (298.75 to 415.85) K." *Journal of Chemical and Engineering Data* 55, no. 9 (September 2010): 3101–8.
84. Stegemann, S., F. Leveiller, D. Franchi, H. de Jong, and H. Linden. "When Poor Solubility Becomes an Issue: From Early Stage to Proof of Concept." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 31, no. 5 (August 2007): 249–61.
85. Stevenson, David E., Reginald Wibisono, Dwayne J. Jensen, Roger A. Stanley, and Janine M. Cooney. "Direct Acylation of Flavonoid Glycosides with Phenolic Acids Catalysed by *Candida Antarctica* Lipase B (Novozym 435 (R))." *Enzyme and Microbial Technology* 39, no. 6 (October 3, 2006): 1236–41.
86. Stovall, D. M., W. E. Acree, and M. H. Abraham. "Solubility of 9-Fluorenone, Thianthrene and Xanthene in Organic Solvents." *Fluid Phase Equilibria* 232, no. 1–2 (May 25, 2005): 113–21.
87. Tom, Jw, and Pg Debenedetti. "Particle Formation with Supercritical Fluids - a Review." *Journal of Aerosol Science* 22, no. 5 (1991): 555–84.
88. Tommasini, S., M. L. Calabro, R. Stancanelli, P. Donato, C. Costa, S. Catania, V. Villari, P. Ficarra, and R. Ficarra. "The Inclusion Complexes of Hesperetin and Its 7-Rhamnoglucoside with (2-Hydroxypropyl)-Beta-Cyclodextrin." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 39, no. 3–4 (September 15, 2005): 572–80.
89. Tooski, Hamed Farhad, Morteza Jabbari, and Ali Farajtabar. "Solubility and Preferential Solvation of the Flavonoid Naringenin in Some Aqueous/Organic Solvent Mixtures." *Journal of Solution Chemistry* 45, no. 12 (December 2016): 1701–14.
90. Vijaya, K., A. Kondaiah, J. Vijaya Ratna, and A. Annapurna. "Preparation and Characterization of Quercetin and Rutin Cyclodextrin Inclusion Complexes." *Drug Development and Industrial Pharmacy* 33, no. 3 (March 2007): 245–53.
91. Wang, Ke, Tingting Liu, Rong Lin, Bing Liu, Guangde Yang, Xin Bu, Weirong Wang, Peipei Zhang, Li Zhou, and Jiye Zhang. "Preparation and in Vitro Release of Buccal Tablets of Naringenin-Loaded MPEG-PCL Nanoparticles." *Rsc Advances* 4, no. 64 (2014): 33672–79.
92. Wu, Kui, Meining Wang, Qizheng Yao, and Ao Zhang. "Synthesis Study toward Mayamycin." *Chinese Journal of Chemistry* 31, no. 1 (January 2013): 93–99.

93. Xu, Yihan, Donghun Koo, Emily A. Gerstein, and Chang-Soo Kim. "Multi-Scale Modeling of Polymer-Drug Interactions and Their Impact on the Structural Evolutions in PLGA-Tetracycline Films." *Polymer* 84 (February 10, 2016): 121–31.
94. Yao, Yashu, Guobei Lin, Yan Xie, Ping Ma, Guowen Li, Qianchao Meng, and Tao Wu. "Preformulation Studies of Myricetin: A Natural Antioxidant Flavonoid." *Pharmazie* 69, no. 1 (January 2014): 19–26.
95. Young, T. H., Y. H. Huang, and Y. S. Huang. "The Formation Mechanism of EVAL Membranes Prepared with or without the Nonsolvent Absorption Process." *Journal of Membrane Science* 171, no. 2 (June 30, 2000): 197–206.
96. Zhang, Qing-Feng, Ying-Juan Fu, Zhan-Wang Huang, Xin-Cheng Shangguang, and Yu-Xian Guo. "Aqueous Stability of Astilbin: Effects of pH, Temperature, and Solvent." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61, no. 49 (December 11, 2013): 12085–91.
97. Zhang, Yu-Nan, He-Mei Yin, Yu Zhang, Da-Jun Zhang, Xin Su, and Hai-Xue Kuang. "Cocrystals of Kaempferol, Quercetin and Myricetin with 4,4'-Bipyridine: Crystal Structures, Analyses of Intermolecular Interactions and Antibacterial Properties." *Journal of Molecular Structure* 1130 (February 15, 2017): 199–207.
98. Zheng, Y., I. S. Haworth, Z. Zuo, M. S. S. Chow, and A. H. L. Chow. "Physicochemical and Structural Characterization of Quercetin-Beta-Cyclodextrin Complexes." *Journal of Pharmaceutical Sciences* 94, no. 5 (May 2005): 1079–89.
99. Zhou, Li, Peipei Zhang, Guangde Yang, Rong Lin, Weirong Wang, Tingting Liu, Liqin Zhang, and Jiye Zhang. "Solubility of Chrysin in Ethanol and Water Mixtures." *Journal of Chemical and Engineering Data* 59, no. 7 (July 2014): 2215–20.
100. Zu, Yuangang, Weiwei Wu, Xiuhua Zhao, Yong Li, Chen Zhong, and Yin Zhang. "The High Water Solubility of Inclusion Complex of Taxifolin-Gamma-CD Prepared and Characterized by the Emulsion Solvent Evaporation and the Freeze Drying Combination Method." *International Journal of Pharmaceutics* 477, no. 1–2 (December 30, 2014): 148–58.

Contribution de la revue

De nombreux auteurs se sont intéressés à la solubilité et à la stabilité des composés phénoliques et en particulier des flavonoïdes. Plusieurs méthodes ont été développées dans différents domaines pour pallier les problèmes liés à leurs faibles solubilité et stabilité et les rendre, donc, disponible pour différentes formulations et utilisation *in vivo*.

Cette étude bibliographique portant sur la solubilité des composés phénoliques, nous a permis dans un premier temps de collecter de nombreuses données sur la solubilité et la stabilité de plusieurs flavonoïdes dans différents milieux organiques et aqueux. Dans un deuxième temps, elle nous a permis de recenser les différentes méthodes expérimentales visant à améliorer leurs propriétés de solubilité et de stabilité. Ces méthodes mettent en œuvre des réactions de fonctionnalisation mais aussi des formulations appropriées par ajout d'adjuvants ou par réduction de taille. L'effet de ces modifications est variable. En général toute modification qui entraîne une augmentation de l'hydrophobicité favorise la solubilisation dans les milieux organiques et l'inverse. De même toute réduction de taille ou de structure favorise la dispersion.

Les outils de modélisation à l'échelle moléculaire et mésoscopique apportent des informations intéressantes et aident à la compréhension des mécanismes d'interaction entre soluté et solvant mises en jeu selon les conditions opératoires appliquées. Ces approches permettent de simuler des systèmes simples ou complexes, en présence de polymères.

Cette revue a donc pu identifier les verrous liés à la solubilisation des composés phénoliques et a aidé au choix des systèmes d'études pour la suite de la thèse.

Etude bibliographique

Chapitre II

II. Méthodes utilisées pour les simulations des systèmes à l'échelle moléculaire et mésoscopique

Pour étudier le comportement des flavonoïdes dans différents solvants ou dans des milieux complexes, les outils de la modélisation moléculaire et de méso-modélisation ont été utilisés (Figure II.1). Dans cette partie bibliographique, sera présentée la théorie qui régit à la fois la modélisation moléculaire et la méso-modélisation. La modélisation moléculaire ayant pour objectif de déterminer les propriétés thermodynamiques et les descripteurs nécessaires pour l'étape de méso-modélisation.

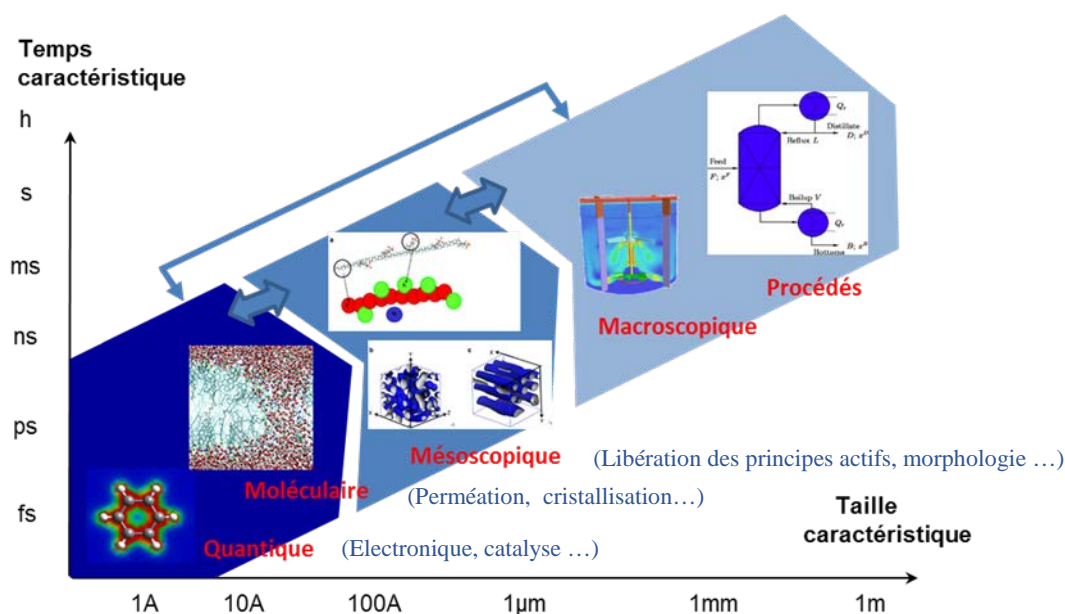


Figure II.1 : La simulation à différentes échelles

1. Les méthodes de simulation à l'échelle moléculaire

Les simulations à l'échelle moléculaire permettent l'étude des molécules à l'échelle atomique (Figure II.1). Ce qui permet de fournir une idée précise sur les propriétés dynamiques et statiques du système à simuler. C'est un outil précieux pour la prédiction de propriétés thermodynamiques de molécules peu connues ou nécessitant la mise au point des méthodes fastidieuses ou coûteuses pour les obtenir.

La simulation moléculaire nécessite des techniques d'échantillonnage des états du système efficaces et une description précise des interactions énergétiques au sein du modèle à simuler. Pour décrire les énergies au sein du système, un champ de force précis résultant de modèles quantiques ou semi-empiriques ajustés sur des données expérimentales doit être défini. Ces simulations reposent sur une description moléculaire en termes de positions et quantités de mouvement de l'ensemble de particules à étudier. Dans ce travail on s'est intéressé

principalement au calcul des paramètres d'interactions de Flory-Huggins par les moyens de simulations moléculaires via le paramètre de la solubilité obtenu par dynamique moléculaire et à partir de l'énergie de mélange dans un mélange binaire à une température donnée en couplant une généralisation hors réseau de la théorie de Flory-Huggins et un échantillonnage en deux étapes par la méthode Monte Carlo. Ainsi, les théories permettant d'obtenir les paramètres de Flory Huggins par la méthode Monte Carlo et par dynamique moléculaire et le champ de force utilisé dans cette thèse pour effectuer les dynamiques moléculaires seront détaillées.

1.1. Calcul des paramètres de Flory-Huggins à partir de l'énergie de mélange : La théorie Monte Carlo et le théorème de Flory-Huggins étendu

Lors de ce travail, on s'est intéressé à l'estimation de l'énergie entre deux molécules en contact à une température donnée. Cette méthode est implémentée dans le module Blends de la suite logicielle Materials Studio. Deux molécules sont dites en contact si leurs surfaces de van der Waals sont tangentes. L'échantillonnage par la méthode Monte Carlo est un processus en deux étapes. Tout d'abord, un grand nombre de configurations de paires aléatoires est donné. Dans chaque configuration, deux atomes doivent être en contact. Dans cet ensemble, la distribution de l'énergie (ou «densité d'états») est évaluée, sur la base d'un champ de force. A partir de cette densité, les énergies moyennes seront déterminées. Le calcul de l'énergie de liaison est répété pour toutes les combinaisons de molécules. Le calcul de la taille du cluster est également fait pour pouvoir estimer le nombre moyen d'interactions dans l'état condensé. La taille du cluster est analogue au nombre de coordination dans les théories du réseau, mais peut varier en fonction de la combinaison d'espèces. A partir des énergies de liaison et des tailles de « clusters », l'énergie de mélange peut être obtenue, ce qui conduit au paramètre d'interaction de Flory-Huggins, χ .

La théorie la plus simple et la plus connue de la thermodynamique des mélanges et de la séparation de phase dans les systèmes binaires est le modèle de Flory-Huggins (Flory, 1953). L'expression générale de l'énergie libre de mélange d'un système binaire est:

$$\frac{\Delta G}{RT} = \frac{\Phi_i}{\eta_i} \ln \Phi_i + \frac{\Phi_j}{\eta_j} \ln \Phi_j + \chi \Phi_j \quad (\text{II.1})$$

ou ΔG est l'énergie libre du mélange (par mole), ϕ_i est la fraction volumique du composant i , η_i est le degré de polymérisation du composant i , χ est le paramètre d'interaction, T est la température absolue et R est la constante des gaz parfaits. Les deux premiers termes

représentent l'entropie combinatoire. Cette contribution est toujours négative, favorisant ainsi un état mixte sur les composants purs. Le dernier terme est l'énergie libre due à l'interaction. Si le paramètre d'interaction, χ , est positif, ce terme défavorise un état mixte. L'équilibre entre l'entropie combinatoire et l'énergie libre due à l'interaction donne lieu à différents diagrammes de phase. χ est défini par la relation suivante (Equation II.2) :

$$\chi = \frac{E_{mix}}{RT} \quad (\text{II. 2})$$

ou E_{mix} est l'énergie de mélange.

Dans le modèle traditionnel de Flory-Huggins, chaque composant occupe un site du réseau. Pour un réseau avec un nombre de coordination Z , l'énergie de mélange est exprimée par l'équation II.3 :

$$E_{mix} = \frac{1}{2}Z(E_{ij} + E_{ji} - E_{ii} - E_{jj}) \quad (\text{II. 3})$$

ou E_{ij} est l'énergie de liaison entre une unité de composé i et une unité du composé j .

Pour les molécules, les énergies de liaison doivent être considérées comme des moyennes sur un ensemble de configurations moléculaires. Or, certaines déficiences ont été observées avec le modèle de Flory-Huggins classique. Dans le modèle étendu de Flory-Huggins, ces degrés de liberté sont incorporés. Il s'agit du modèle de Flory Huggins classique auquel deux extensions importantes ont été apportées. La première est l'intégration d'une dépendance explicite à la température sur le paramètre d'interaction par la génération d'un grand nombre de configurations de paires i et j et en calculant les énergies de liaison, ainsi qu'une moyenne de la température des résultats obtenus en utilisant le facteur de Boltzmann et en calculant le paramètre d'interaction dépendant de la température. La deuxième extension est que les molécules ne sont plus disposées sur un réseau ordinaire comme dans la théorie de Flory-Huggins originale. Le nombre de coordination est explicitement calculé pour chacune des paires de molécules en utilisant des simulations moléculaires par la méthode Monte Carlo (Blanco, 1991 ; Fan et al., 1992).

1.2. Calcul des paramètres d'interactions de Flory Huggins à parti de la méthode de la solubilité : Théorie de la dynamique moléculaire

Les premières simulations par dynamique moléculaire ont été effectuées par Rahman (Rahman, 1964) en 1964 sur l'argon liquide puis sur l'eau liquide en 1971 (Rahman and Stillinger, 1971). Les applications de la dynamique moléculaire en tant qu'outil de prédiction fiable sont nombreuses (interaction entre deux composés, diffusion de molécules, formation de structures biologiques complexes, prédiction des propriétés dynamiques du système à l'équilibre à partir des corrélations temporelles, prédiction des grandeurs statiques à partir des corrélations spatiales ...). Contrairement à la mécanique moléculaire qui permet de calculer la position des atomes et des molécules dans leur état énergétique minimal (sans vibration, ni mouvement), la dynamique moléculaire étudie le mouvement des systèmes en fonction du temps et dans l'espace en se basant sur la simulation de la trajectoire des particules par intégration des équations du mouvement. Le système étant défini par la mécanique classique, la simulation de son comportement dynamique est assurée par l'application de la deuxième loi de Newton pour le déplacement des atomes. Cette loi de Newton relie la somme des forces appliquées sur le système à son accélération (Equation II. 4) :

$$\vec{F}_i = m_i \vec{a}_i = m_i \frac{d^2 \vec{r}_i(t)}{dt^2} \quad (\text{II.4})$$

ou \vec{F}_i est le vecteur force agissant sur l'atome i ; m_i la masse de l'atome i ; \vec{a}_i est le vecteur accélération de l'atome et \vec{r}_i la position de l'atome i .

Après un temps infini, le système couvrira toute la surface d'énergie potentielle, obéissant ainsi à la condition de l'hypothèse ergodique (cette hypothèse stipule qu'une grandeur obtenue par simulation de la dynamique moléculaire est comparable à une valeur moyennée de cette grandeur sur un grand nombre d'individus obtenu de manière instantanée.) (Haile, 1997). Cependant, en pratique, l'hypothèse d'ergodicité n'est jamais vérifiée à cause du temps fini du calcul. Par ailleurs, la dynamique moléculaire obéit à la loi de Boltzmann. De ce fait, les états de haute énergie sont difficilement échantillonnés. Le changement de conformation est donc rare d'où la nécessité de réaliser de longues simulations.

Sur le plan pratique, la qualité d'une étude par dynamique moléculaire repose sur deux caractéristiques fondamentales. D'un côté, le potentiel d'interaction moléculaire $V(\mathbf{R}_i, \dots, \mathbf{R}_M)$ vu qu'il englobe toute la physique du système à simuler. Il doit être le plus précis possible. D'un autre côté, la résolution des équations de Newton d'où l'importance de choisir un

algorithme permettant d'obtenir des trajectoires réalistes dans l'ensemble statistique associé. Plusieurs algorithmes peuvent être utilisés, les plus utilisés seront détaillés dans le paragraphe suivant.

1.2.1. Le potentiel

Le potentiel $V(R_1, \dots, R_M)$ englobe un groupe de paramètres mathématiques permettant de considérer les interactions subies et engendrées par les particules. Leur complexité dépend du système modélisé. Les particules modélisées en dynamique moléculaire sont souvent des atomes, on parle alors de modèles tout-atomes. Cependant, il se peut que les particules contiennent un ensemble d'atomes ; on parle alors de modèles à atomes unifiés (Smith, 1998). Dans le cas des systèmes moléculaires simulant des matières organiques comme les polymères ou les molécules biologiques tels que les sucres ou les protéines, il sera judicieux de considérer le potentiel d'interaction en tant que deux potentiels. Un potentiel liant permettant de prendre en considération les interactions inhérentes à la création de liaisons covalentes entre les atomes, et un potentiel non liant qui permet de considérer les interactions coulombiennes et de van der Waals.

1.2.2. Algorithmes d'intégration en dynamique moléculaire

Il existe plusieurs approches pour intégrer numériquement les équations de Newton du mouvement, pour calculer les accélérations, vitesses et positions des particules pour chaque pas de temps à partir des forces et potentiels d'interaction entre les particules. Pour cela, il est nécessaire de définir un pas d'intégration δt qui représente l'écart entre la valeur initiale au temps t et la valeur au temps t_1 . Il doit être choisi de manière à englober toute la physique du système, afin de comprendre son comportement dynamique. Il faut, donc, considérer le mouvement de tous les degrés de liberté du système (angles, liaisons...), notamment les vibrations de toutes les liaisons. Mais, l'utilisation d'un grand pas de temps provoque des instabilités et des imprécisions dans le processus d'intégration. Un compromis est par conséquent nécessaire entre le temps de calcul et la précision.

Une fois le pas d'intégration définie, les coordonnées du système sont calculées à un temps t . Ensuite, un algorithme d'intégration est utilisé pour obtenir les nouvelles coordonnées au temps $t + \delta t$ jusqu'à atteindre le temps de simulation total. L'algorithme d'intégration choisi doit être précis, conserver l'énergie, être réversible par rapport au temps, être rapide et symplectique (doit conserver exactement l'énergie d'un hamiltonien discret).

- **Algorithme de Verlet**

L'algorithme de Verlet (Verlet, 1967 ; Frenkel et Smit, 1996 ; Haile, 1997) est un des algorithmes les plus simples et les plus robustes. C'est une méthode réversible, stable qui procure un temps de calcul rapide. Cet algorithme prend en compte les positions et accélérations aux temps $t - \delta t$ et t pour calculer les positions au temps $t + \delta t$. Il repose sur la décomposition par rapport au temps de la position r_i en série de Taylor jusqu'à l'ordre 4.

$$R_i(t + \Delta t) = R_i(t) + v_i(t) + \frac{F_i(t)}{2M_i} \Delta t^2 + \frac{\Delta t^3}{3} \frac{d^3 R(t)}{dt^3} + O(\Delta t^4) \quad (\text{II.5})$$

$$R_i(t - \Delta t) = R_i(t) - v_i(t) + \frac{F_i(t)}{2M_i} \Delta t^2 - \frac{\Delta t^3}{3} \frac{d^3 R(t)}{dt^3} + O(\Delta t^4) \quad (\text{II.6})$$

En additionnant les deux équations II.5 et II.6, on obtient alors la position au temps $t + \delta t$:

$$R_i(t + \Delta t) + R_i(t - \Delta t) = 2R_i(t) + \frac{F_i(t)}{M_i} \Delta t^2 + O(\Delta t^4) \quad (\text{II.7})$$

$$R_i(t + \Delta t) = 2R_i(t) - R_i(t - \Delta t) + \frac{F_i(t)}{M_i} \Delta t^2 + O(\Delta t^4) \quad (\text{II.8})$$

Comme le montre l'équation x et l'équation y, la vitesse n'est pas utilisée pour calculer les nouvelles positions. Mais elle est nécessaire pour le calcul des propriétés dynamiques. Elle peut être calculée pour une particule i à un temps par différence finie (équation II.9):

$$v_i(t) = \frac{R_i(t+\Delta t) - R_i(t-\Delta t)}{2\Delta t} + O(\Delta t^2) \quad (\text{II.9})$$

Néanmoins, l'algorithme Verlet présente l'inconvénient de ne pas être précis pour des pas de temps très importants et que l'énergie ne dérive que légèrement à long terme.

- **Algorithme leap-frog**

L'algorithme *Leap-frog* est dérivé de celui de Verlet pour remédier à sa faible précision sur la vitesse. Il a pour principe de diviser le pas d'intégration par deux, afin d'avoir plus de précision dans le calcul des nouvelles coordonnées. Les vitesses sont calculées au temps $t + \frac{1}{2}\delta t$ et utilisées pour calculer les positions au temps $t + \delta t$.

$$r(t) = r\left(t + \frac{\delta t}{2} - \frac{\delta t}{2}\right) = r\left(t + \frac{\delta t}{2}\right) - v\left(t + \frac{\delta t}{2}\right) \frac{\delta t}{2} \quad (\text{II.10})$$

$$r(t + \delta t) = r\left(t + \frac{\delta t}{2} + \frac{\delta t}{2}\right) = r\left(t + \frac{\delta t}{2}\right) + v\left(t + \frac{\delta t}{2}\right) \frac{\delta t}{2} \quad (\text{II.11})$$

La soustraction de ces deux équations donne l'expression de la position au temps $t + \delta t$:

$$r(t + \delta t) = r(t) + v\left(t + \frac{\delta t}{2}\right) \delta t \quad (\text{II.12})$$

Les vitesses au temps $t + \frac{1}{2}\delta t$ sont calculées à partir des valeurs des vitesses au temps $t - \frac{1}{2}\delta t$ et des accélérations au temps t :

$$v\left(t + \frac{\delta t}{2}\right) = v\left(t - \frac{\delta t}{2}\right) + a(t)\delta t \quad (\text{II.13})$$

L'algorithme Leapfrog présente les mêmes propriétés de réversibilité et de stabilité de l'algorithme Verlet. Cependant, il calcule d'une façon plus précise la vitesse mais pas au même pas de temps que la position. Il est donc impossible de calculer l'énergie potentielle et l'énergie cinétique et donc l'énergie totale du système de façon directe.

- **Algorithme Velocity-Verlet**

Pour pallier la difficulté rencontrée par l'algorithme Leapfrog dans l'obtention de l'énergie totale du système, l'algorithme Velocity-Verlet a été développé. On part d'une expansion de Taylor de la position atomique :

$$R_i(t + \Delta t) = R_i(t) + v_i(t) \Delta t + \frac{F_i(t)}{2M_i} \Delta t^2 \quad (\text{II.14})$$

De la vitesse :

$$v_i(t + \Delta t) = v_i(t) + \frac{F_i(t)}{M} \Delta t + \frac{\dot{F}_i(t)}{2M_i} \Delta t^2 \quad (\text{II.15})$$

Et de la force :

$$F_i(t + \Delta t) = F_i(t) + \dot{F}_i(t) \Delta t \quad (\text{II.16})$$

$$\frac{\dot{F}_i(t) \Delta t}{2M} = \frac{F_i(t + \Delta t) - F_i(t)}{2M} \quad (\text{II.17})$$

En incorporant l'équation de la force dans l'équation de la vitesse on obtient :

$$v_i(t + \Delta t) = v_i(t) + \frac{F_i(t + \Delta t) + F_i(t)}{M} \Delta t \quad (\text{II.18})$$

Les équations de la position et de la vitesse (équation II.14 et équation II.15) nous fournissent donc la position et la vitesse en même temps ($t + \Delta t$).

1.2.3. Le champ de force COMPASS

- **Introduction**

Les simulations à l'échelle microscopique sont effectuées en association avec un champ de force. En effet, un champ de force représente l'ensemble d'équations paramétrées qui décrivent les différentes contributions à l'énergie potentielle totale d'un système chimique tel que les énergies de van der Waals, de Coulomb, de torsion ... Il existe plusieurs champs de force qui sont utilisés en se basant sur la nature chimique du système à modéliser. Ces fonctions représentent un bon compromis entre la durée de calcul et la précision. Leur calibration est faite par la combinaison de données obtenues expérimentalement et les résultats de calculs précis en mécanique quantique menés sur de petites molécules. Les champs de force sont généralement calibrés pour représenter la matière à un état minimal d'énergie, c'est-à-dire que les calculs dynamiques ne simulent que des systèmes thermodynamiquement équilibrés. Il existe, en fonction des systèmes étudiés, de nombreux champs de force différents. Les champs de force tout-atome (all atom) qui considèrent tous les atomes du système avec l'hydrogène, les champs de force atomes unifiés (united atom) qui ne considèrent que les hydrogènes polaires (centre d'interaction) et les champs de force basés sur les atomes lourds qui ne prennent pas en compte les atomes d'hydrogène. Certains champs de force sont basés sur des modèles simplifiés comme les champs à gros grains (coarse grained) ou les champs basés sur des grilles et réseaux (in lattice). Parmi les champs de force les plus utilisés, on peut citer : AMBER (Pearlman et al., 1995), CHARMM (Brooks et al., 1983), la famille des MM1 (Allinger et Von Voithenberg, 1971), MM2 (Allinger et al. 1977 ; Burkert et al., 1982) et MM3 (Allinger et al., 1989,1990), COMPASS (Sun, 1998) et OPLS (1978).

Pour ce travail, toutes les simulations nécessitant l'utilisation d'un champ de force ont été faites avec le champ de force COMPASS

- **Le champ de force COMPASS**

COMPASS (Condensed-phase Optimized Molecular Potentials for Atomistic Simulation Studies) a été conçu comme champ de force général, en se basant sur le champ de force PCFF, pour l'ensemble des molécules organiques, les petites molécules inorganiques et les polymères par le biais des techniques de paramétrage empirique et ab-initio. Cette procédure de paramétrage combinée a été adoptée puisqu'elle améliore considérablement les

performances d'un champ de force général. Les paramètres de valence et les charges partielles atomiques ont été dérivés en ajustant les données ab initio. Les paramètres van der Waals ont été obtenus en appliquant les outils de la dynamique moléculaire sur des liquides moléculaires. Les énergies cohésives simulées et les densités d'équilibre ont été ajustées en se basant sur les données expérimentales. Une étude de validation basée sur un grand nombre de molécules isolées, de liquides moléculaires et de cristaux moléculaires, représentant 28 classes moléculaires différentes a montré que COMPASS permet une prédiction assez précise et simultanée des propriétés structurales, conformationnelles, vibratoires et thermophysiques d'un large spectre de molécules isolées ou en phases condensées (Sun, 1998). Dans l'approche du champ de force COMPASS, l'énergie totale E_T d'un système est représentée par la somme des interactions liantes et non-liantes donné par l'équation II.19 :

$$E_T = E_B + E_0 + E_\phi + E_{oop} + E_{pe} + E_{vdw} + E_q \quad (\text{II.19})$$

Les quatre premiers termes représentent les interactions liées (bonded interactions) qui correspondent aux énergies associées à la liaison, E_B la flexion de l'angle de liaison (bond angle bending), E_0 rotations de l'angle de torsion, E_ϕ hors boucle, E_{oop} et l'énergie potentielle E_{pe} . Les deux derniers termes représentent les interactions non liées constituées du terme de van der Waals E_{vdw} et la force électrostatique E_q . Dans COMPASS, E_{vdw} est toujours décrite par un potentiel 9-6 du type Lennard-Jones, tandis que l'énergie électrostatique est calculée à partir de charges partielles des atomes dans le système estimé par la méthode de l'équilibrage des charges.

Donc, selon les types d'atomes impliqués, COMPASS possède quatre type de potentiels; covalent, ionique, semi-ionique, métallique.

- Le potentiel covalent :

Le potentiel covalent permet de modéliser les molécules dont les liaisons sont covalentes. Ceci suppose que le type des liaisons soit connu entre les différents atomes (liaison simple, double, triple ou de résonance). Sa forme mathématique est la suivante (Sun, 1998) (équation II.20)

$$\begin{aligned}
V = & \sum_R k_1 (R - R^0)^2 + k_2 (R - R^0)^3 + k_3 (R - R^0)^4 + \\
& \sum_\theta k_4 (\theta - \theta^0)^2 + k_5 (\theta - \theta^0)^3 + k_6 (\theta - \theta^0)^4 + \\
& \sum_\varphi k_7 [1 - \cos(\varphi)] + k_8 [1 - \cos(2\varphi)] + k_9 [1 - \cos(3\varphi)] + \\
& \sum k_{10} \chi^2 + \\
& \sum_{R,R'} k_{11} (R - R^0)(R' - R'^0) + \\
& \sum_{R,\theta} k_{11} (R - R^0)(\theta - \theta^0) + \\
& \sum_{R,\varphi'} (R - R^0) [k_7 [1 - \cos(\varphi)] + k_8 [1 - \cos(2\varphi)] + k_9 [1 - \cos(3\varphi)]] + \\
& \sum_{\theta,\varphi'} (\theta - \theta^0) [k_7 [1 - \cos(\varphi)] + k_8 [1 - \cos(2\varphi)] + k_9 [1 - \cos(3\varphi)]] + \\
& \sum_{\theta,\theta'} k_{11} (\theta - \theta^0)(\theta' - \theta'^0) + \\
& \sum_{\theta,\theta',\varphi} k_{11} (\theta - \theta^0)(\theta' - \theta'^0) \cos \varphi + \\
& \sum_{i>j} \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \\
& \sum_{i,j} \epsilon_{ij} \left[2 \left(\frac{R_{ij}^0}{R_{ij}} \right)^9 - 3 \left(\frac{R_{ij}^0}{R_{ij}} \right)^6 \right]
\end{aligned} \tag{II.20}$$

ou les quatre premières sommes modélisent respectivement l'énergie d'élongation, l'énergie de flexion, l'énergie de torsion et de distorsion. Les six sommes suivantes représentent les termes croisés. La 11^{ème} somme correspond au terme d'énergie coulombien et la dernière somme le potentiel de van der Waals représenté par un potentiel « 9-6 » de type Lennard Jones.

- Les potentiels ionique, semi ionique et métallique

Les liaisons ioniques correspondent au potentiel covalent auquel on soustrait toute la partie liante du potentiel. Elles correspondent donc au potentiel de van der Waals et au potentiel coulombien. Ce qui permet de modéliser des systèmes mixtes contenant des ions et des molécules à liaisons covalentes. Le potentiel semi-ionique permet de modéliser les liaisons iono-covalentes. Pour les atomes qui ne sont pas en contact direct, les interactions sont modélisées par le potentiel de van der Waals et le potentiel coulombien. Mais, pour les atomes

en contact, l'énergie d'interaction est représentée par un terme coulombien et une fonction de dispersion de type Morse (équation II.21)

$$V_{M-o} = \varepsilon \{ \exp[-2\alpha(R - R_m)] - 2 \exp[-\alpha(R - R_m)] \} f_s + \frac{C}{R^6} (1 - f_s)$$

avec

$$f_s = \frac{1}{1 + \exp(R - R_m)}$$
(II.21)

Pour les liaisons métalliques COMPASS utilise un potentiel « 9-6 » de type Lennard Jones pour décrire ce type d'interaction en volume. Les paramètres ε et R_0 utilisés pour caractériser les atomes sont propres à ce potentiel. Il est donc impossible de créer des systèmes avec des atomes métalliques et des atomes impliqués dans des liaisons covalentes (Minisini, 2004).

1.2.4. Calcul du paramètre de solubilité à partir de la dynamique moléculaire

La démarche globale de la simulation moléculaire consiste à utiliser des techniques de minimisation et de dynamique moléculaire pour échantillonner les états d'un système auquel on associe un modèle d'interaction énergétique (champ de force) qui décrit explicitement les forces intra et intermoléculaires. Premièrement, un modèle de molécules dans lequel il faut renseigner les paramètres du champ de force est choisi. Après sa construction arbitraire, une molécule se trouve dans une conformation caractérisée par un état de haute énergie source d'instabilité, divergence ou des erreurs systématiques dans le calcul ultérieur des énergies. D'où la nécessité d'appliquer une minimisation de l'énergie du système en se basant sur les informations énergétiques du champ de force choisi. Elle consiste, à partir d'un ensemble de coordonnées initiales, à déterminer quelles sont les coordonnées qui correspondent à un état d'énergie minimum. Il s'agit d'un minimum très relatif et local où l'ensemble des coordonnées obtenues est très proche de l'ensemble initial (Benali, 2006). Sur le système minimisé, une dynamique moléculaire en NVT, NPT ou autre ensemble selon le résultat souhaité est appliquée. L'énergie de la densité cohésive est alors obtenue comme un des résultats de la dynamique moléculaire.

Le paramètre de solubilité δ est obtenu à partir de la densité d'énergie cohésive selon la formule (équation II.22) développée en 1949 par Hildebrand et Scott (Hildebrand et Scott ; 1949):

$$\delta = CED^{1/2} = (-U_{vap}/V_m)^{1/2} \quad (II.22)$$

ou CED est la densité de l'énergie cohésive et U_{vap} l'énergie de vaporisation et V_m le volume molaire.

2. Simulations à l'échelle mésoscopique

Les méthodes de simulation à l'échelle moléculaire donnent des résultats très intéressants pour une échelle de temps et de distance bien définis (Figure II.1). Mais dès qu'on augmente la taille du système étudié, les outils développés à l'échelle moléculaire ne seront plus capables de traiter ces systèmes en un temps raisonnable. C'est le cas de certaines structures hétérogènes telles que les suspensions, les colloïdes et les mélanges de polymères.

Pour pallier ces inconvénients, les outils de modélisation à l'échelle mésoscopique ont été développés. Ces outils sont adaptés pour modéliser les propriétés physiques des matériaux, les interactions dans les systèmes polymériques, des solutions de polymères dilués ou semi-dilués, des suspensions de particules colloïdales, des microémulsions ... et de prédire des détails microscopiques comme la formation de capsules, de particules, d'agrégats ou de gouttelettes. La méso-modélisation peut décrire les systèmes à une échelle nanométrique (10 à 1000 nm) sans s'intéresser aux détails atomiques (Young, 2001). Elle ne retient que les éléments essentiels du système à simuler et les regroupe pour former les modèles gros grains. Un modèle gros grains est représenté par un ensemble de perles où chaque perle peut contenir ou représenter une sous-structure, des molécules, des monomères, des micelles, un domaine microcristallin, une particule solide ou une région d'un fluide arbitraire. Par exemple, pour modéliser un polymère, un potentiel harmonique liera différentes perles le constituant. Cette méthode est, de ce fait, moins gourmande en puissance de calcul et plus rapide. Mais elle nécessite des approximations et des hypothèses en fonction du système étudié et des informations recherchées. La Figure II.1 montre le positionnement de la méso-modélisation parmi les différents niveaux de modélisation ainsi que les applications associées.

La méso-modélisation peut être basée sur des particules ou sur des champs. Pour ce chapitre on va s'intéresser à deux méthodes de simulations. Une simulation par particules : la dynamique de la particule dissipative DPD et une simulation par champ : « dynamics density functional theory » (MesoDyn).

2.1. Dynamique de la particule dissipative DPD

2.1.1. Introduction

La dynamique de la particule dissipative DPD a été introduite par Hoogerbrugge et Koelman au début des années 1990, comme nouvelle technique de simulation pour les comportements hydrodynamiques (Hoogerbrugge et Koelman, 1992). Cette technique a été dérivée de la dynamique moléculaire et des automates en réseau. En réussissant à augmenter la longueur et le temps mésoscopique des simulations. La technique atteint ce but en maintenant le principe d'intégration d'une équation de mouvement, mais pour un système dans lequel les plus petits degrés spatiaux sont moyennés. Le mouvement rapide des atomes dans un tel système est calculé en moyenne et la structure restante est représentée par un ensemble de «perles», de masse et de taille données, qui interagissent via des potentiels doux avec d'autres perles. Le mouvement des perles est supposé être régi par les lois de Newton.

En 1995, Español et Warren (Español and Warren, 1995) ont déterminé que la force totale pour chaque perle DPD est une somme de trois termes additifs entre paires de perles, soient la force conservative (une faible répulsion), la force dissipative (proportionnelle à la vitesse relative des perles), et la force aléatoire (nécessaire pour maintenir l'apport d'énergie dans le système en opposition à la dissipation). Par un choix approprié de la grandeur relative de ces forces, on peut montrer qu'un système évolue vers un état stable qui correspond à l'ensemble canonique de Gibbs. Les forces dissipatives et aléatoires ont le rôle d'un thermostat sur la simulation et c'est la force conservative qui incarne l'essentiel de la chimie du système. L'intégration des équations de mouvement pour les perles génère une trajectoire à travers l'espace de phase du système à partir duquel tous les observables thermodynamiques (par exemple champs de densité, paramètres de commande, fonctions de corrélation, tensor de contrainte, etc.) peuvent être construits à partir de moyennes appropriées. Toutes les forces sont «douces», ce qui permet d'utiliser un temps beaucoup plus grand et des temps de simulation correspondants.

En 1997, Groot et Warren ont fait une importante contribution pour la méthode en établissant une relation entre la force de répulsion conservative de DPD et le paramètre d'interaction de la théorie Flory-Huggins (Groot et Warren, 1997 ; Flory, 1953). Le paramètre d'interaction de Flory-Huggins peut être relié à la solubilité et à l'énergie de mélange binaire. Il peut être obtenu par des simulations atomistiques ou par expérimentation. La théorie de la dynamique de la particule dissipative comme l'a présenté Groot et Warren en 1997 et sa relation avec le paramètre de Flory Huggins va être discutée dans la partie suivante.

2.1.2. Les équations du mouvement

Dans une simulation DPD, le mouvement des particules est calculé en résolvant les équations de mouvement sur un certain laps de temps. En effet, les équations de mouvement décrivent le déplacement des particules sous l'influence des forces citées plus haut. Le mouvement des particules est simulé à température constante, et les forces contiennent les températures d'un thermostat spécial. DPD utilise un thermostat stochastique et dynamique, qui la distingue dynamique brownienne ou moléculaire. Considérons un ensemble de perles interagissant entre elles avec une masse uniforme m . Soit r_i la position de la perle i et v_i sa vitesse. La variation de la position et de la vitesse dans le temps est donnée par l'équation du mouvement (équation II.23)

$$\frac{\partial r_i}{\partial t} = v_i; \quad \frac{\partial v_i}{\partial t} = \frac{f_i}{m_i} \quad (\text{II.23})$$

ou f_i est la force exercée sur la perle i à cause de l'interaction avec les autres perles. En général, cette force peut être écrite de la manière suivante (équation II.24):

$$f_i = \sum_{i \neq j} (F_{ij}^C + F_{ij}^D + F_{ij}^R) + f_i^S + f_i^A \quad (\text{II.24})$$

Le terme entre parenthèse est la force due à l'interaction d'une perle i avec une perle voisine j ou f_{ij}^C est la force conservatrice, f_{ij}^D est la force dissipative, f_{ij}^R est la force aléatoire. Les deux autres forces sont liées aux interactions de liens « bonded interactions » ou f_{ij}^S est la force Spring et f_{ij}^A la force des angles.

La force conservatrice est définie par l'équation suivante (équation II.25):

$$F_{ij}^C = a_{ij} \omega^C(r_{ij}) e_{ij} \quad (\text{II.25})$$

avec $a_{ij} = a_{ji} > 0$, indiquant que cette force est toujours répulsive. DPD utilise une fonction de poids linéaire simple pour la force conservatrice: $\omega^C(r) = 1 - r/r_c$ pour $r < r_c$.

La force dissipative, F^D , est proportionnelle à la vitesse avec laquelle deux perles s'approchent l'une de l'autre (équation II.26) :

$$F_{ij}^D = -\gamma_{ij} \omega^D(r_{ij}) (v_{ij} \cdot e_{ij}) e_{ij} \quad (\text{II.26})$$

avec $\gamma_{ij} = \gamma_{ji} > 0$ et $v_{ij} = v_i - v_j$ est la différence de vitesse. La composante centrale, $v_{ij} \cdot e_{ij}$, est positive si deux perles se déplacent l'une vers l'autre, auquel cas, la force dissipative est considérée comme répulsive. Si deux perles s'éloignent l'une de l'autre, la composante centrale est négative et la force dissipative est considérée comme attractive. Par conséquent, la force dissipative réduit toujours la vitesse centrale relative. DPD utilise une fonction quadratique pour la force dissipative: $\omega^D(r) = (1 - r/r_c)^2$ pour $r < r_c$.

La force aléatoire agit également entre les paires de perles (équation II.27):

$$F_{ij}^R = \sigma_{ij} \omega^R(r_{ij}) \xi_{ij} \frac{1}{\sqrt{\Delta t}} e_{ij} \quad (\text{II.27})$$

avec $\sigma_{ij} = \sigma_{ji} > 0$ et Δt est le pas du temps avec lequel les équations du mouvement (équation II.23) sont résolues. DPD utilise une fonction de poids linéaire pour la force aléatoire: $\omega^R(r) = 1 - r/r_c$ pour $r < r_c$. Le terme $\xi_{ij} = \xi_{ji}$ est un nombre aléatoire avec une moyenne nulle et une variance unitaire (équation II.28).

$$\langle \xi_{ij} \rangle = 0, \langle \xi_{ij}^2 \rangle = 1 \quad (\text{II.28})$$

Le bruit, ξ_{ij} , peut être déduit de n'importe quelle distribution avec ces moments. Par exemple, une distribution gaussienne normale ou une distribution uniforme entre $-\sqrt{3}$ et $+\sqrt{3}$. Pour plus de simplicité, DPD utilise la distribution uniforme. Un nombre aléatoire est tiré indépendamment pour chaque paire à chaque pas de temps. Comme ξ_{ij} peut avoir différents signes, la force aléatoire peut être répulsive ou attractive. Dans DPD, les forces aléatoires (et dissipatives) obéissent à la troisième loi de Newton: $F_{ij} = -F_{ji}$.

Si une mésomolécule contient plus d'une perle, alors d'autres interactions liées existent. La force de ressort appliquée sur une perle i est $f_i^S = -\partial U^S / \partial r_i$, ou U^S est le potentiel total lié.

2.1.3. Mise à l'échelle de la longueur, de la vitesse et du temps

Contrairement aux simulations de la dynamique moléculaire, où les particules représentent des atomes avec une taille connue soumise à des forces mesurables expérimentalement, les perles dans les calculs DPD ne correspondent pas aux atomes ou molécules réels. Il s'agit de petites régions de fluide qui interagissent par des forces phénoménologiques.

Les régions sont choisies d'une manière à partager la même masse, m et le même rayon d'interaction, r_c . Étant donné que toutes les perles sont définies par les mêmes paramètres, il

est convenable d'introduire un système d'unités réduites, dans lequel la masse de la perle et son rayon d'interaction correspondent aux unités de masse et de longueur. Une quantité de référence supplémentaire est nécessaire, qu'on va la prendre en tant qu'une énergie, E_{ref} . Sachant que les perles partagent la même distribution de vitesse, avec une variance fixée par la température, T , E_{ref} est généralement définie comme étant l'énergie thermique, $k_B T$, à température ambiante. Toutes les autres unités peuvent être dérivées ensuite. Par exemple, les forces sont mesurées en unités de E_{ref}/r_c , le temps est mesuré en unités de $rc\sqrt{m/E_{\text{ref}}}$ et la pression ou le stress en unités de E_{ref}/rc^3 .

Dans DPD, toutes les propriétés peuvent être considérées en unités réduites m , r_c et E_{ref} , ou leurs combinaisons. Relier les résultats d'une simulation à un système physique nécessite la substitution des valeurs de m , r_c et E_{ref} par les unités physiques adéquates. Après avoir spécifié les unités réduites, toutes les propriétés dérivées peuvent être calculées.

2.1.4. Relation avec la théorie de Flory-Huggins

Une des principales utilisations de la dynamique de la particule dissipative DPD est de prédire le comportement en phase de fluides complexes, tels que les mélanges de copolymères et les mélanges tensioactif-huile-eau. Comme le diagramme de phase est une conséquence directe des interactions entre les particules de DPD, il est important d'établir des paramètres d'interactions réalistes. Pour obtenir des paramètres d'interactions décrivant le comportement de phase complexe, il est préférable de considérer d'abord un fluide simple de deux composants seulement. Pour de tels mélanges binaires, il existe plusieurs théories microscopiques, dont la plus connue est celle de Flory et Huggins. Leur théorie est capable d'exprimer le comportement de phase complet des mélanges de polymères en fonction d'un seul paramètre, le paramètre d'interaction de Flory-Huggins χ . Ce paramètre a été calculé à partir de données expérimentales pour de nombreux types de polymères et peut être trouvé dans la littérature. En comparant DPD à cette théorie, il est possible de lier les paramètres DPD au paramètre χ . Les paramètres DPD calculés à partir de χ peuvent ensuite être utilisés pour étudier des situations plus complexes avec de nombreux composants.

Groot et Warren (Groot et Warren, 1997) ont modélisé des systèmes contenant des substances pures par variation de l'amplitude de la force conservative (α). Ils ont mesuré la pression (P) en fonction des paramètres d'interactions de DPD (a) et ils ont observé une équation quadratique pour une plage de densité de perle (ρ) (équation II.29).

$$p = \rho k_B T + \alpha a \rho^2 \quad (\text{II.29})$$

avec $\alpha = 0,101 \text{ r}_c^2$. Cette équation est valable pour des densités supérieures à 2 r_c^{-3} . La compressibilité pour l'équation d'état est donnée par l'équation II.30:

$$\kappa^{-1} = 1 + \frac{2\alpha a \rho}{k_B T} \quad (\text{II.30})$$

Comme la compressibilité de l'eau est d'environ 16, la valeur du paramètre d'interaction a est :

$$a \approx 75 \frac{k_B T}{\rho} \quad (\text{II.31})$$

Donc pour une densité de $\rho = 3 \text{ r}_c^{-3}$, $a = 25 \text{ k}_B T / \text{r}_c$ pour des systèmes ayant une compressibilité équivalente à l'eau. La valeur de $25 \text{ k}_B T / \text{r}_c$, est la valeur par défaut pour toutes les interactions entre les espèces dans les simulations DPD.

Dans des simulations DPD, les composés peuvent être de même nature comme ils peuvent être de natures différentes et on peut les différencier en changeant le paramètre de répulsion entre eux. Groot et Warren ont établi un lien entre le paramètre d'interaction DPD et le paramètre de Flory Huggins χ . Groot et Warren ont mesuré χ pour plusieurs séries de systèmes binaires avec DPD en augmentant la différence entre le paramètre de répulsion $a_{ij} - a_{ii}$ à partir de zéro. Comme l'interaction est favorable, le mélange se sépare en deux phases. Le paramètre χ est obtenu à partir de la phase coexistente comme le montre la relation suivante:

$$\chi = \frac{\ln\left(\frac{1-\varnothing}{\varnothing}\right)}{1-2\varnothing} \quad (\text{II.32})$$

ou \varnothing est la fraction du volume de la composante minoritaire des phases coexistantes. Groot et Warren ont réussi à obtenir une relation linéaire entre les paramètres de répulsion DPD et les paramètres d'interactions de Flory-Huggins χ comme le montre la Figure II.2. La courbe en bleue représente des perles ayant une densité de $\rho = 5 \text{ r}_c^{-3}$ et la courbe en violet des perles d'une densité $\rho = 3 \text{ r}_c^{-3}$. Les pentes des courbes sont respectivement de 0,689 et 0,286 pour des unités réduites ($\text{r}_c / \text{k}_B T$).

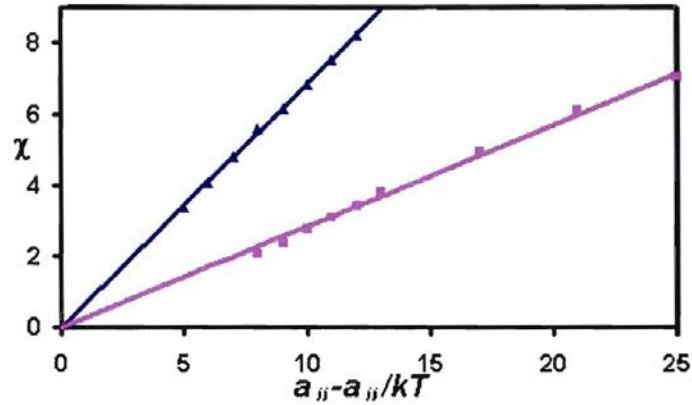


Figure II.2 : Relation entre le paramètre de Flory-Huggins et le paramètre de répulsion de DPD déterminée par Groot et Warren. La courbe en bleu représente une densité de perle de 5, et la courbe violet représente une densité de perle de 3.

En ajoutant les interactions par défaut entre les perles, on obtient les corrélations suivantes pour les deux courbes:

$$a_{ij}(\rho = 3) = \frac{\chi}{0,286} + 25 \quad (\text{II.33})$$

$$a_{ij}(\rho = 5) = \frac{\chi}{0,689} + 15 \quad (\text{II.34})$$

Aussi, le paramètre de Flory Huggins peut être obtenu à partir du paramètre de solubilité des polymères δ à partir de l'équation suivante :

$$\chi = \frac{V_{ref}(\delta_i - \delta_j)^2}{RT} \quad (\text{II.35})$$

ou V_{ref} le volume molaire moyen des deux composantes, R est la constante des gaz parfaits et T est la température. Le paramètre de solubilité est défini en étant :

$$\delta = \sqrt{\frac{E_c}{V}} \quad (\text{II.36})$$

ou V est le volume et E_c est l'énergie cohésive, qui est l'énergie nécessaire pour évaporer un système à un gaz idéal à une température constante. L'énergie cohésive peut être calculée à partir de la dynamique moléculaire comme étant l'énergie intermoléculaire moyenne.

Il existe également des méthodes pour calculer χ qui ne considèrent pas l'état condensé, mais estiment χ à partir des interactions à l'intérieur d'une coquille de coordination. Dans le modèle Flory-Huggins, le paramètre χ peut être exprimé comme :

$$\chi = \frac{1}{2} \frac{z}{k_B T} (2a_{ij} + a_{ii} + a_{jj}) \quad (\text{II.37})$$

ou z est le nombre de coordination.

2.2. Théorie de la fonctionnelle de la densité dynamique (MesoDyn)

2.2.1. Introduction

La méthode MesoDyn est une méthode de simulation gros grains basée sur une variante dynamique de la théorie de la fonctionnelle de la densité moyenne. Elle convient pour l'étude de fluides complexes, de leur cinétique et de leurs structures à l'équilibre à des grandes échelles de taille et de temps. MesoDyn permet d'analyser des morphologies aussi bien quantitativement que qualitativement.

Contrairement aux approches basées sur l'équilibre pour étudier des morphologies de phase, MesoDyn reconnaît la nature dynamique des structures. Les types de structures que MesoDyn permet d'étudier ont, typiquement, des dimensions comprises entre 10 et 100 nm. De tels objets se rassemblent naturellement dans des matériaux tels que des savons et des détergents et contribuent aux propriétés uniques de ces matériaux. La théorie de MesoDyn sera détaillée en s'inspirant des travaux de Li et al. (Li et al., 2005).

2.2.2. Théorie dans MesoDyn

Les simulations par MesoDyn, ont pour base la théorie de la fonctionnelle de la densité. Elles reposent sur l'idée que l'énergie libre F d'un liquide non homogène est fonction de la fonction de densité locale ρ . À partir de l'énergie libre, toutes les fonctions thermodynamiques peuvent être dérivées.

Dans une simulation MesoDyn, le système à simuler est défini comme étant un ensemble de perles de divers types (I, J, ...) avec des interactions décrites par des potentiels d'oscillateurs harmoniques pour les interactions intramoléculaires (chaîne gaussienne) et un potentiel de champ moyen pour toutes les autres interactions. Chaque perle est formée par un seul type de composants représentant des groupes d'atomes liés d'une manière covalente (par exemple une ou plusieurs unités de répétition d'une chaîne polymérique). La dynamique du système est décrite par un ensemble d'équations fonctionnelles de Langevin. Ce sont des équations de diffusion dans les densités des composants, tout en prenant en considération le bruit dans le système.

Sur une échelle de temps mésoscopique, $\rho^0(r)$ est défini comme étant un champ de concentration collective des perles de type I à un instant de temps t . $\rho^0(r)$ sert d'un niveau de référence. Il va y avoir une certaine distribution de positions de perles définie comme étant $\Psi(R_{11} \dots R_{nN})$, où $R_{\gamma s}$ est la position de la perle s de la chaîne γ . Etant donné une distribution Ψ , la concentration collective de la perle (s) de toutes les chaînes, peut être définie par la moyenne d'un opérateur de densité microscopique.

$$\rho_I[\Psi](r) \equiv \sum_{r=1}^n \sum_{s=1}^N \delta_{IS}^K Tr \Psi \delta(r - R_{\gamma s}) \quad (\text{II.38})$$

ou δ_{IS}^K est la fonction Kronecker d'une valeur de 1 quand la perle s est de type I et de 0 pour les autres types. On suppose que dans un liquide avec une relaxation lente, les interactions ne dépendent pas de la quantité de mouvement. Un ensemble de fonctions de distribution Ψ est défini par la contrainte $\rho_0^I(r) = \rho_I[\Psi](r)$. Toutes les distributions Ψ conduisent à la même forme de densité $\rho_0^I(r)$: une classe d'équivalence Ω de la fonction de distribution :

$$\Omega = \{\Psi(R_{11}, \dots, R_{nN}) | \rho_I[\Psi](r) = \rho_0^I(r)\} \quad (\text{II.39})$$

En se basant sur cet ensemble de fonctions de distribution, une fonctionnelle de l'énergie libre intrinsèque peut être définie comme :

$$F[\Psi] = Tr(\Psi H^{id} + \beta^{-1} \Psi \ln \Psi) + F^{nid}[\rho^0] \quad (\text{II.40})$$

Le premier terme décrit la valeur moyenne du l'Hamiltonien pour les interactions internes de la chaîne gaussienne. Le second terme représente l'entropie de Gibbs de la distribution $-k_B T \Psi \ln \Psi$. Le troisième terme est la contribution non idéale du champ moyen. Ψ est indépendante de l'histoire du système et est entièrement caractérisé par les contraintes. Elle représente la répartition de la densité et minimise la fonction de l'énergie libre.

Cette contrainte sur les champs de densité est réalisée par les moyens d'un potentiel externe U_I . La minimisation des contraintes de la fonctionnelle de l'énergie libre conduit à une distribution optimale qui, à son tour, et par la relation « un-par-un » entre densités, distributions et potentiel externe, peut être écrit comme suit:

$$\beta F[\rho] = n \ln \Phi + \beta^{-1} \ln n! - \sum_I \int U_I(r) \rho_I(r) dr + \beta F^{nid}[\rho] \quad (\text{II.41})$$

On introduira maintenant le modèle pour la fonctionnelle de l'énergie libre non idéale :

$$F^{nid}[\rho] = \frac{1}{2} \iint \epsilon_{II} (|r - r'|) \rho_I(r) \rho_I(r') + \epsilon_{IJ} (|r - r'|) \rho_I(r) \rho_J(r') + \epsilon_{JI} (|r - r'|) \rho_J(r) \rho_I(r') + \epsilon_{JJ} (|r - r'|) \rho_J(r) \rho_J(r') dr dr' \quad (\text{II.42})$$

ou $\epsilon_{IJ}(|r - r'|)$ est une interaction énergétique de champ moyen entre perles de type I à r et type J à r' . Les potentiels chimiques intrinsèques de champ moyen peuvent facilement être dérivés par la différenciation fonctionnelle de l'énergie libre $\mu_I(r) = \delta F / \delta \rho_I(r)$. A l'équilibre $\mu_I(r)$ est une constante, ce qui résulte en des équations de champ auto-cohérentes pour le modèle de chaîne gaussienne de champ moyen. En général, ces équations ont de nombreuses solutions, dont l'une sera l'état de l'énergie libre la plus basse; la plupart des états seront métastables. En se basant sur ces équations, la théorie dépendante du temps de Ginzburg-Landau généralisée peut être mise en place.

Les équations de Langevin fonctionnelles pour la dynamique diffusive des champs de densité sont introduites:

$$\frac{\partial \rho_I}{\partial t} = M v_J \nabla \rho_I \rho_J \nabla [\mu_I - \mu_J] + \eta \quad (\text{II.43})$$

$$\frac{\partial \rho_J}{\partial t} = M v_J \nabla \rho_I \rho_J \nabla [\mu_J - \mu_I] + \eta \quad (\text{II.44})$$

La distribution du bruit gaussien η suit le théorème de fluctuation-dissipation:

$$\langle \eta(r, t) \rangle = 0 \quad (\text{II.45})$$

$$\langle \eta(r, t) \eta(r', t') \rangle = -\frac{2M v_B}{\beta} \delta(t - t') \nabla_r \times \delta(r - r') \rho_I \rho_J \nabla_{r'} \quad (\text{II.46})$$

ou M est le paramètre de mobilité d'une bille. Le coefficient cinétique $M v_J \rho_I \rho_J$ modélise un mécanisme d'échange local. Les équations de Langevin sont construites pour un système incompressible avec une contrainte dynamique:

$$\left(\rho_I(r, t) + \rho_J(r, t) \right) = \frac{1}{v_B} \quad (\text{II.47})$$

ou v_B est le volume moyen d'une bille.

Références bibliographiques

1. Allinger, N. L., and S. H. M. Chang. "Conformational analysis—CXXIII: Carboxylic Acids and Esters in Force Field Calculations." *Tetrahedron* 33, no. 13 (January 1, 1977): 1561–67.
2. Allinger, Norman L., Mita Rahman, and Jenn Huei Lii. "A Molecular Mechanics Force Field (MM3) for Alcohols and Ethers." *Journal of the American Chemical Society* 112, no. 23 (November 1, 1990): 8293–8307.
3. Allinger, Norman L., and Hubertus Von Voithenberg. "Conformational analysis—131: A Molecular Mechanics Treatment of phosphines" Paper 130, N.L. Allinger, *J. Am. Chem. Soc.* 99, 8127 (1977)." *Tetrahedron* 34, no. 6 (January 1, 1978): 627–33.
4. Allinger, Norman L., Young H. Yuh, and Jenn Huei Lii. "Molecular Mechanics. The MM3 Force Field for Hydrocarbons. 1." *Journal of the American Chemical Society* 111, no. 23 (November 1, 1989): 8551–66.
5. Benali, Mohammed. "Prédiction Des Interactions Substrat/Liant Lors de La Granulation: Etude Expérimentale Dans Un Mélangeur À Fort Taux de Cisaillement, Approches Thermodynamiques Par Simulation Moléculaire." PhD Thesis, December 13, 2006.
6. Blanco, M. "Molecular Silverware .1. General-Solutions to Excluded Volume Constrained Problems." *Journal of Computational Chemistry* 12, no. 2 (March 1991): 237–47.
7. Brooks, Bernard R., Robert E. Bruccoleri, Barry D. Olafson, David J. States, S. Swaminathan, and Martin Karplus. "CHARMM: A Program for Macromolecular Energy, Minimization, and Dynamics Calculations." *Journal of Computational Chemistry* 4, no. 2 (June 1, 1983): 187–217.
8. Burkert, U. and Allinger, N. L., 1982, *Molecular Mechanics*, ACS Monograph 177. American Chemical Society, Washington, DC, n.d.
9. D. J. Hildebrand, R. Scott, *Solubility of Non-Electrolytes*. 3rd Ed. Reinhold, New York, (1949), n.d.
10. Español, Pep, and Patrick Warren. *Statistical Mechanics of Dissipative Particle Dynamics*, 1995.
11. Fan, Cun Feng, Barry D. Olafson, Mario Blanco, and Shaw Ling Hsu. "Application of Molecular Simulation to Derive Phase Diagrams of Binary Mixtures." *Macromolecules* 25, no. 14 (July 1, 1992): 3667–76.
12. Flory, Paul J. *Principles of Polymer Chemistry*. The George Fisher Baker Non-Resident Lectureship in Chemistry at Cornell University. Ithaca, NY: Cornell University Press, 1953.
13. Frenkel, Daan, and Berend Smit, eds. *Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications*. 1st ed. Orlando, FL, USA: Academic Press, Inc., 1996.
14. Groot, R. D., and P. B. Warren. "Dissipative Particle Dynamics: Bridging the Gap between Atomistic and Mesoscopic Simulation." *Journal of Chemical Physics* 107, no. 11 (September 15, 1997): 4423–35.
15. Haile, J.M. "Wiley: *Molecular Dynamics Simulation: Elementary Methods* - J. M. Haile," April 1997.

16. Hoogerbrugge, PJ, and JMVA Koelman. "Simulating microscopic hydrodynamic phenomena with dissipative particle dynamics." *Europhysics Letters* 19, no. 3 (June 1, 1992): 155–60.
17. Li, Y. M., G. Y. Xu, A. M. Chen, S. L. Yuan, and X. R. Cao. "Aggregation between Xanthan and Nonyphenyloxypropyl β -Hydroxyltrimethylammonium Bromide in Aqueous Solution: MesoDyn Simulation and Binding Isotherm Measurement." *The Journal of Physical Chemistry B* 109, no. 47 (December 1, 2005): 22290–95.
18. Minisini, Benoit. "Modélisation et Simulation D'un Matériau Nanocomposite À Base de Polypropylène Chargé de Nanoparticules Lamellaires." February 5, 2004.
19. Pearlman, David A., David A. Case, James W. Caldwell, Wilson S. Ross, Thomas E. Cheatham, Steve DeBolt, David Ferguson, George Seibel, and Peter Kollman. "AMBER, a Package of Computer Programs for Applying Molecular Mechanics, Normal Mode Analysis, Molecular Dynamics and Free Energy Calculations to Simulate the Structural and Energetic Properties of Molecules." *Computer Physics Communications* 91, no. 1–3 (September 2, 1995): 1–41.
20. Rahman, A. "Correlations in the Motion of Atoms in Liquid Argon." *Physical Review* 136, no. 2A (October 19, 1964): A405–11.
21. Rahman, Aneesur, and Frank H. Stillinger. "Molecular Dynamics Study of Liquid Water." *The Journal of Chemical Physics* 55, no. 7 (October 1, 1971): 3336–59.
22. Smith, David K. "Functional Dendrimers: Unique Biological Mimics - Smith - 1998 - Chemistry - A European Journal - Wiley Online Library," 1998.
23. Sun, H. "COMPASS: An Ab Initio Force-Field Optimized for Condensed-Phase Applications Overview with Details on Alkane and Benzene Compounds." *The Journal of Physical Chemistry B* 102, no. 38 (September 1, 1998): 7338–64.
24. Verlet, Loup. "Computer 'Experiments' on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard-Jones Molecules." *Physical Review* 159, no. 1 (July 5, 1967): 98–103.
25. Young, David C. "Mesoscale Methods." In *Computational Chemistry*, 273–76. John Wiley & Sons, Inc., 2001.

Chapitre III

III. Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Logiciel utilisé

Pour procéder aux différentes étapes de modélisation moléculaire et mésoscopique, on a utilisé la suite logicielle Materials Studio 7.0 fournie par Accelrys®.

Ce logiciel constitue un environnement de modélisation et de simulation complet permettant de prévoir et de comprendre les relations entre la structure atomique et moléculaire d'un matériau et ses propriétés et son comportement. Les modules utilisés lors de cette thèse sont les suivants :

- Amorphous cell : est une suite d'outils informatiques permettant de construire des modèles représentatifs de systèmes amorphes complexes et de prédire des propriétés clés.
- Blends : prédit les diagrammes de phase et les paramètres d'interactions pour les mélanges liquide-liquide, polymère-polymère et additifs-polymère, équilibre de phase et technologie de séparation.
- COMPASS : est un champ de force qui permet de prédire ou de reproduire des propriétés structurales, de conformation, de vibration, et thermo-physiques pour un large spectre de molécules isolées et dans les phases condensées, et sous un large intervalle de température et de pression.
- MesoDyn : est une méthode classique de la densité fonctionnelle pour l'étude du comportement des systèmes formés par des fluides complexes à des échelles de temps et de longueur importants, en particulier la séparation de phase et la structure des systèmes complexes de polymères.
- Mesocite : est un module de simulation grossière pour l'étude des matériaux à des échelles de longueur allant du nanomètre au micromètre et des échelles du temps de nanoseconde à la microseconde. Mesocite peut fournir des propriétés structurales et dynamiques des fluides à l'équilibre, dans des conditions de cisaillement ou des géométries confinées.
- Synthia : calcule les propriétés des homo- et copolymères utilisant des relations quantitatives structure-propriété avancées (QSPR).

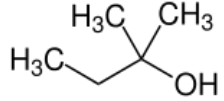
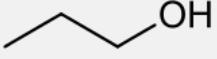
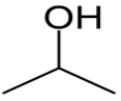
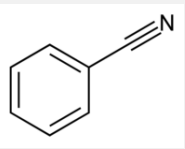
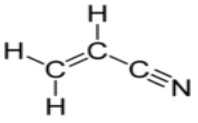
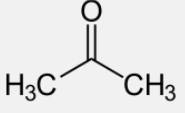
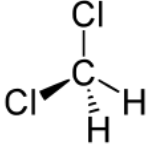
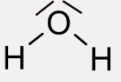
- Forcite : calcule les énergies à un point unique et effectue une optimisation de la géométrie des molécules et aussi des systèmes périodiques. Pour les systèmes périodiques, Forcite permet l'optimisation mailles primitives simultanément avec les coordonnées moléculaires. Une pression hydrostatique externe peut être appliquée.
- Discover : Intègre un large spectre de méthodologies de la mécanique et de la dynamique moléculaire. En utilisant le champ de force adéquat, ce module permet le calcul des conformations minimales de l'énergie, les familles de structures et les trajectoires de la dynamique des systèmes moléculaires. Discover fournit des résultats qui vont servir pour initier d'autres calculs par Materials Studio.

1.2. Réactifs

1.2.1. Solvants

Les solvants utilisés lors de ce travail sont résumés dans le Tableau III.1. Tous les solvants utilisés sont de qualité analytique (CLHP).

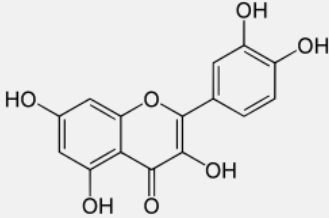
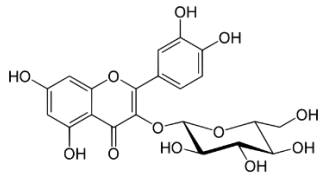
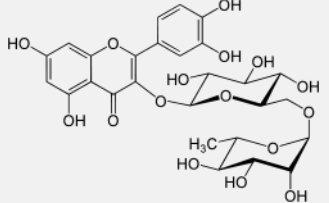
Tableau III.1 Informations liées aux solvants utilisés

<i>Solvant</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Masse molaire (g/mol)</i>	<i>Formule brute</i>	<i>Structure</i>
Acétonitrile	ACN	41,0519	C ₂ H ₃ N	$\text{H}_3\text{C}-\text{C}\equiv\text{N}$
2-méthyl-2-butanol	MB	88,15	C ₅ H ₁₂ O	
Propan-1-ol	PL	60,095	C ₃ H ₈ O	
Isopropanol	ISPL	60,095	C ₃ H ₈ O	
Benzonitrile	BZN	103,121	C ₇ H ₅ N	
Acrylonitrile	ACRL	53,062	C ₃ H ₃ N	
Acétone	AC	58,079	C ₃ H ₆ O	
Dichlorométhane	DM	84,933	CH ₂ Cl ₂	
Eau	W	18,015	H ₂ O	

1.2.2. Flavonoïdes

Les informations liées aux flavonoïdes utilisés pour le développement de ce travail sont résumées dans le Tableau III.2.

Tableau III.2 : Informations liées aux flavonoïdes utilisés

<i>Flavonoïde</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Masse molaire (g/mol)</i>	<i>Formule brute</i>	<i>Structure</i>
Qercétine	Q	302,24	$C_{15}H_{10}O_7$	
Isoquercétine	I	464,38	$C_{21}H_{20}O_{12}$	
Rutine	R	610,52	$C_{27}H_{30}O_{16}$	

1.2.3. Polymères

Le Tableau III.3. donne des informations sur les polymères testés dans ce travail.

Tableau III.3 : Informations sur les polymères utilisés

<i>Polymère</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Structure</i>
Poly(Lactide-co-Glycolide) 75/25	PLGA75/25	
Poly(Lactide-co-Glycolide) 65/35	PLGA65/35	
Poly(Lactide-co-Glycolide) 50/50	PLGA50/50	
Alcool polyvinylique	PVA	

2. Résumé de la méthodologie générale adoptée

Dans ce travail une méthodologie générale a été adoptée afin d'étudier la solubilité des flavonoïdes mais aussi lors de leur intégration dans des matrices complexes (Figure II)

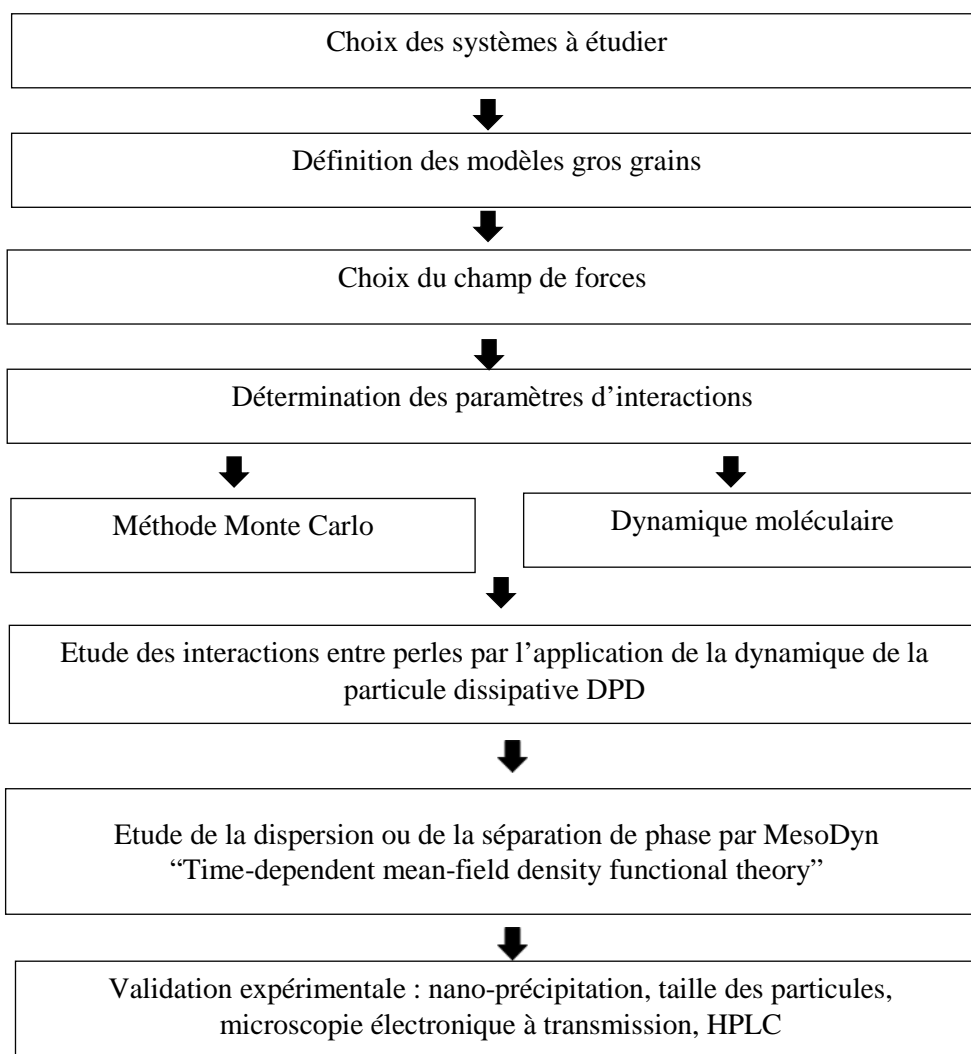


Figure III.1 : Méthodologie générale adoptée

3. Etude de la solubilité des flavonoïdes dans différents solvants organiques

3.1. Etablissement des modèles gros grains du système étudié

L'ensemble des molécules étudiées (quercétine, rutine, isoquercétine, acétonitrile, 2-méthyl-2-butanol, isopropanol, propan-1-ol, benzonitrile, et acrylonitrile) a été représenté sous forme de perles. En se basant sur les travaux d'Otto et al. (Otto et al. 2013), on a divisé la quercétine en deux unités distinctes B1 (cycle A et cycle C) et B2 (cycle B) (Figure III.2). Les formes glycosylées de la quercétine (rutine et isoquercétine) ont été représentées par trois

perles chacune (Tableau III.4). Les solvants étant des petites molécules, ont été représentés par une perle chacun (Tableau III.4).

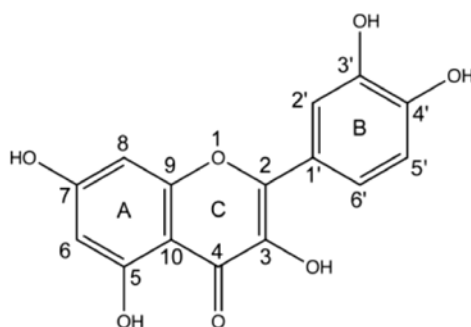
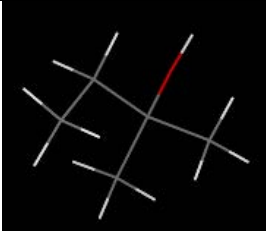
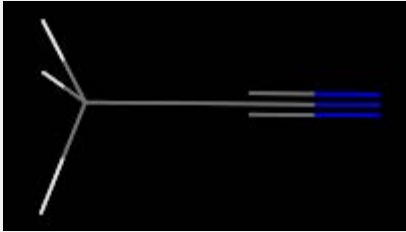
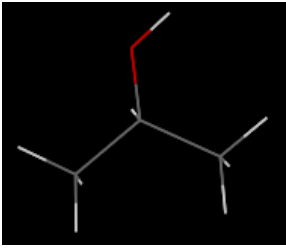
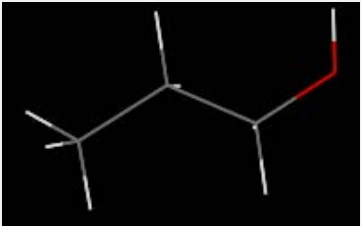
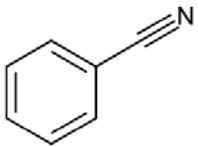
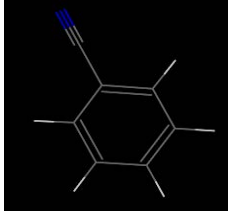
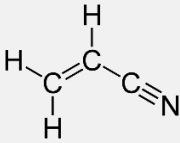
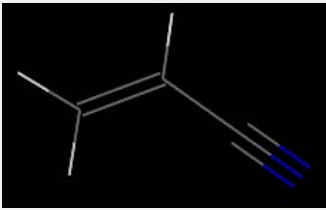


Figure III.2 : Nomenclature et numérotation systématique de la quercétine

Tableau III.4 : Représentation gros grains des flavonoïdes et solvants utilisés

<i>molécule</i>	<i>Structure</i>	<i>Modèle gros grain</i>		
Quercétine				
Isoquercétine				
Rutine				

M2B2	$ \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \\ \diagdown \quad / \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{OH} \\ / \\ \text{H}_3\text{C} \end{array} $	 <p>MB</p>
Acétonitrile	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}\equiv\text{N} \\ \\ \text{H} \end{array} $	 <p>ACN</p>
Isopropanol	$ \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{C} \quad \text{C} \end{array} $	 <p>ISPL</p>
Propan-1-ol	$ \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{C}-\text{C}-\text{C} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} $	 <p>PL</p>
Benzonitrile		 <p>BZN</p>

Acrylonitrile		 <p style="text-align: center;">ACRL</p>
---------------	---	--

3.2. Choix du champ de forces

On a choisi le champ de force COMPASS (Condensed-phase Optimized Molecular Potentials for Atomistic Simulation Studies) intégré dans la suite logicielle Materials Studio 7.0. Ce champ de force a été conçu pour prendre en compte un large spectre de petites molécules organiques. L'optimisation de la géométrie des différentes perles (B1, B2, B3, B4, B5, ACN, MB, ACL, ISPL, PL, BZN) a été conduite en utilisant COMPASS comme champ de forces (Tableau III.4).

3.3. Calcul des paramètres d'interactions

Le calcul des paramètres de Flory Huggins est basé sur la méthode de Monte Carlo implanté dans le logiciel Materials Studio 7.0 via le module Blends. Cette méthode est bien appropriée pour évaluer les interactions qui peuvent avoir lieu dans le mélange. Parmi les informations générées par Blends, on s'est intéressé au paramètre de Flory Huggins dépendant de la température (χ). La détermination du paramètre d'interaction χ commence par le calcul de l'énergie de liaison entre deux composés ainsi que le nombre de coordination Z. Une fois calculé, ce paramètre donne une information sur la miscibilité dans les mélanges. Les paramètres d'interactions obtenus vont aussi initier les simulations faites à l'échelle mésoscopique par les méthodes DPD et MESODYN.

La formule utilisée pour calculer ce nombre adimensionnel χ , est:

$$\chi_{ij} = \frac{\Delta E_{mix}}{RT} \quad (III.1)$$

ou ΔE_{mix} est l'énergie du mélange, R la constante des gaz parfaits et T la température en K.

E_{mix} est la différence d'énergie libre due à l'interaction entre les paires de corps purs (i-i et j-j par exemple) par rapport à l'état des paires mixtes (i-j et j-i).

$$E_{\text{mix}} = \frac{1}{2} Z (E_{ij} + E_{ji} - E_{ii} - E_{jj}) \quad (\text{III.2})$$

ou sont E_{ij} , E_{ji} , E_{ii} et E_{jj} les énergies de liaisons entre les paires de composés correspondant à la moyenne d'un ensemble de configurations et Z le nombre de coordination.

500000 configurations Monte Carlo à l'échelle atomique à 323K ont été générées en faisant changer les surfaces van derWaals des différentes paires de perles i et j via le module Blends.

3.4. Etude des interactions par la dynamique de la particule dissipative DPD

3.4.1. Principe

Lors de la dynamique de la particule dissipative (DPD), deux particules i et j interagissent deux à deux. La force des deux corps symétriques peut être décrite comme une somme de forces conservatrice F_{ij}^C , dissipative F_{ij}^D et aléatoire F_{ij}^R . Il s'agit de l'équation de mouvement de Newton :

$$f_i = \sum_{i \neq j} (F_{ij}^C + F_{ij}^D + F_{ij}^R) \quad (\text{III.3})$$

La méthode DPD est une technique adimensionnelle, c'est-à-dire qu'elle possède ses propres unités (unités réduites) que l'on doit convertir par la suite en unités physiques lors de l'interprétation des résultats.

3.4.2. Calcul des paramètres de répulsion

Le paramètre de répulsion entre deux perles de nature différente, a_{ij} , est dérivé du paramètre de Flory Huggins. Ce paramètre est obtenu par l'équation III.4 (en unités réduites et non physiques):

$$a_{ij} = a_{ii} + 3.27 \chi_{ij} \quad (\text{III.4})$$

ou $a_{ii} = 25$ et χ_{ij} le paramètre de Flory Huggins (Groot et Warren, 1997)

3.4.3. Paramétrage des simulations DPD

- *Construction des boîtes périodiques*

Plusieurs boîtes de simulations ont été construites pour contenir les molécules de flavonoïdes et de solvants. La composition des boîtes reproduit les conditions expérimentales, soit une concentration de 50 g/L. Cette concentration correspond à 5 % du flavonoïde et 95 % du

solvant dans chaque boîte. Les dimensions des boîtes sont de $30 \times 30 \times 30 r_c$ en unités réduites correspondant à $210 \times 210 \times 210 \text{ \AA}$ en dimensions physiques.

- **Optimisation de la géométrie des boîtes**

Pour minimiser l'énergie des systèmes étudiés, une optimisation de la géométrie de la boîte a été effectuée via le module Mesocite dans Materials Studio 7.0 dans les conditions suivantes : 0,1 GPa de pression, un maximum de tolérance de 7.5×10^{-6} pour l'énergie et 7.5×10^{-5} pour la force. La phase d'optimisation se termine quand les dimensions et l'énergie du système se stabilisent (Figure III.3)

Au moins, cinq optimisations successives ont été effectuées pour chaque système en alternant entre deux algorithmes de calcul différents (*steepest descent* et *conjugate gradient*) ainsi que la procédure d'optimisation *smart*.

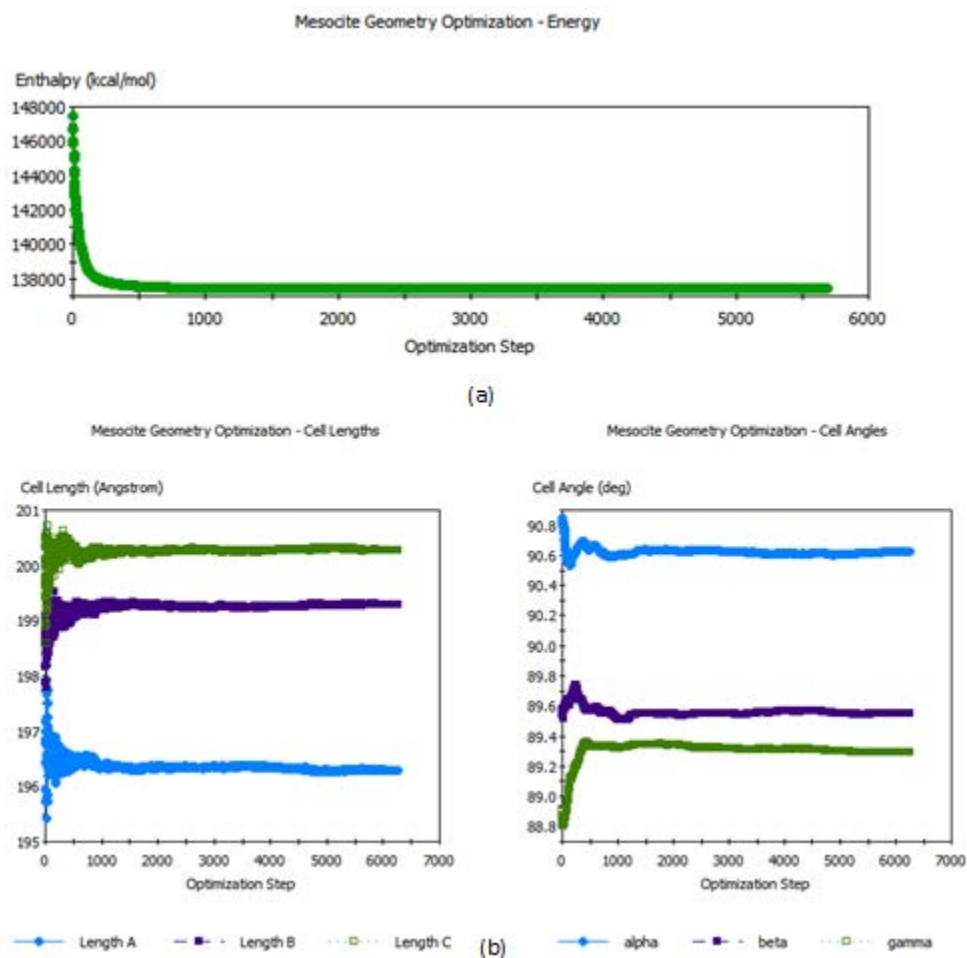


Figure III.3 : Exemple d'optimisation de l'énergie (a) et des dimensions (b) du système par différents algorithmes

- **Paramètres utilisés pour les simulations DPD**

Un million de pas de simulation à 323 K avec un pas de temps de 0.05 (250 fs en unités physiques) et un temps de calcul total de 250 μ s sont les conditions appliquées lors des simulations DPD.

3.5. Etude de la dispersion ou de la séparation de phase par MFDFT

3.5.1. Principe

La dynamique à échelle mésoscopique (MesoDyn) basée sur la méthode MFDFT nous permet d'avoir une idée sur l'agrégation ou la séparation de phase qui peut avoir lieu dans un système donné. En effet, les potentiels dans MesoDyn varient avec le mouvement de la particule dans le domaine de l'étude. Il en résulte une description MFDFT (time-dependent mean-field density functional theory) de la distribution de la densité de la particule.

Mesodyn se base sur l'équation de diffusion stochastique :

$$\partial \rho_i / \partial t = M v_j \nabla \rho_i \rho_j \nabla [\mu_i - \mu_j] + \eta \quad (\text{III.5})$$

$$\partial \rho_j / \partial t = M v_j \nabla \rho_i \rho_j \nabla [\mu_j - \mu_i] + \eta \quad (\text{III.6})$$

Les informations obtenues par MesoDyn vont compléter les résultats acquis par DPD (mouvement et concentration relative des perles).

3.5.2. Calcul des paramètres d'interactions

Les paramètres d'interactions, λ_{ij} , à introduire dans cette dynamique sont calculés selon l'équation III.7.

$$\lambda_{ij} \text{ (kJ/mol)} = \chi_{ij} RT \quad (\text{III.7})$$

ou χ_{ij} est le paramètre de Flory Huggins ; R la constante des gaz parfaits et T la température de mélange en K.

3.5.3. Paramétrage des simulations MFDFT

Comme pour les simulations DPD, chaque boîte représente une composition précise de flavonoïde et de solvant. Les dimensions des boîtes sont de 32 nm*32 nm*32 nm, le rapport longueur de liaison/longueur de boîte est de 1.1543, le coefficient de diffusion des perles est

de 1.10^{-7} cm²/s, le pas de calcul est de 1 million et le pas de temps d'intégration est de 50 ns à 323 K. Les valeurs du bruit et de la compressibilité sont de 75.002 et 10 respectivement.

4. Etude des interactions entre flavonoïde et polymère en milieu aqueux

4.1. Choix des systèmes à étudier

Comme précédemment, la quercétine et le solvant (eau) sont représentés par 2 perles et 1 une perle respectivement à l'échelle du gros grain. Par contre pour calculer le nombre de perles pour chaque polymère, on a opté pour la méthode du ratio caractéristique. Le ratio caractéristique C_∞ d'un polymère est défini comme étant le rapport entre la distance moyenne « du bout à bout » au carré (r_0^2) d'une chaîne polymérique réelle (ou d'un modèle de chaîne) et la valeur attendue pour une chaîne librement articulée avec le même nombre de liaison (n) et le même carré de la longueur moyenne des liaisons (l_i^2) (équation III.8).

$$C_\infty = \frac{r_0^2}{n l_i^2} \quad (\text{III.8})$$

Ce ratio caractéristique C_∞ peut être obtenu de la littérature, par voie expérimentale ou par modélisation via le module Synthia dans Materials Studio 7.0 par une méthode QSPR. Le nombre de perles, est alors, calculé en appliquant l'équation III. 9

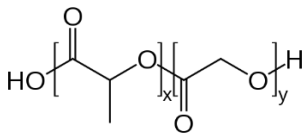

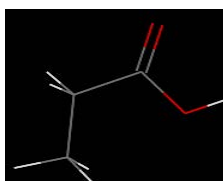
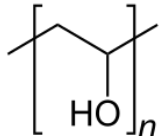

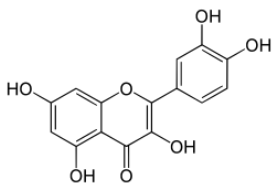
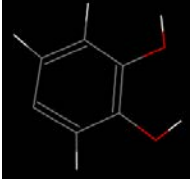
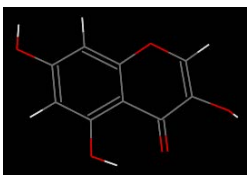
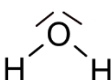
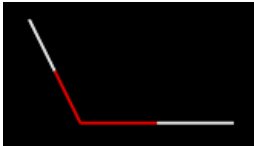
$$n_{DPD} = \frac{\overline{M_w}}{M_n C_n} \quad (\text{III. 9})$$

ou $\overline{M_w}$ est la masse moléculaire moyenne du polymère, M_n est la masse moléculaire du motif de répétition du polymère « monomère » et C_n est le ratio caractéristique du polymère d'un polymère de taille définie.

Sachant que C_n est le ratio caractéristique d'un polymère d'une taille définie et C_∞ est le ratio caractéristique d'un polymère d'une taille infinie. Il n'existe pas une grande différence entre les deux valeurs et utiliser l'une ou l'autre dans le cas spécifique de la détermination de nombres de perles pour DPD, n'a aucune influence sur le résultat.

Suite à des contraintes de puissance de calcul, un système simplifié composé par des chaînes de PLGA et de PVA de 20 perles a été choisi (Tableau III. 5). Ceci en se basant sur des travaux ayant utilisés la même approche (Desrosiers, 2009 ; Xu et al., 2016).

Tableau III.5 : Représentation gros grains du PLGA, PVA, quercétine et eau

<i>Molécule</i>	<i>Structure</i>	<i>Modèle gros grains</i>	
PLGA 75/25 PLGA 65/35 PLGA 50/50		 <p style="text-align: center;">AG</p>	 <p style="text-align: center;">AL</p>
PVA		 <p style="text-align: center;">PVA</p>	
Quercétine		 <p style="text-align: center;">B2</p>	 <p style="text-align: center;">B1</p>
Eau		 <p style="text-align: center;">W</p>	

4.2. La taille du système et les différents paramétrages pour DPD

La taille de la boîte dépend de la longueur du polymère. La taille du système est choisie pour que la plus longue chaîne polymérique ait une conformation linéaire dans la boîte (détails du calcul dans le chapitre mise au point)

4.3. Choix de champ de forces

Le champ de forces utilisé a été créé par le module Mesocite dans Materials Studio 7.0 à partir des paramètres d'interactions calculés précédemment (paramètres de Flory Huggins χ_{ij}).

4.4. Calcul des paramètres d'interactions

Le calcul des paramètres d'interactions a été fait par la méthode Monte Carlo et par dynamique moléculaire.

Méthode de la solubilité par dynamique moléculaire

- **Principe**

Le paramètre de solubilité était développé principalement pour des liquides mais des approximations et des hypothèses ont été faites pour l'étendre aux solides organiques. Le paramètre de solubilité δ est obtenu à partir de la densité d'énergie cohésive selon l'équation III.10 (Hildebrand et Scott ; 1949):

$$\delta = CED^{1/2} = (-U_{vap}/V_m)^{1/2} \quad (\text{III. 10})$$

ou CED est la densité de l'énergie cohésive, U_{vap} l'énergie de vaporisation et V_m le volume molaire.

L'énergie de cohésion considère toutes les interactions inter atomiques/moléculaires, impliquant les interactions de van der Waals, les liaisons covalentes, les liaisons ioniques, les liaisons hydrogènes, les interactions électrostatiques et les interactions des dipôles induits et des dipôles permanents. La théorie du paramètre de solubilité est applicable à des molécules non polaires interagissant par l'intermédiaire de faibles forces de dispersion. Elle a ensuite été étendue aux systèmes polaires en divisant le paramètre de solubilité en plusieurs contributions partielles représentant les différents types d'interactions.

- **Paramètres de calcul**

La première étape consiste en la construction des boîtes contenant un composé pur à la fois. Pour les structures atomiques des différentes perles B1, B2, AL, AG, PVA, W : le module Amorphous Cell dans Materials Studio 7.0 a servi à la construction différentes boîtes d'une densité de 1 g/cm³ à 298 K en utilisant le champ de forces COMPASS. Une optimisation de la géométrie a été effectuée sur toutes les boîtes. La dynamique moléculaire via le module Forcite dans Materials Studio 7.0 a été appliquée sur toutes les boîtes obtenues. Une première dynamique a été conduite avec une énergie totale (ensemble statistique) NPT, une température de 298K, une pression 0.1 GPa avec un pas de temps de 1 fs et un temps de simulation totale de 500 ps avec un Thermostat *Andersen* et un Barostat *Berendensen*. Une deuxième

dynamique a été appliquée sur les boites obtenues dans les mêmes conditions mais avec un ensemble statistique NVT. Après optimisation des systèmes par dynamique moléculaire, l'énergie de la densité cohésive (CED) ainsi que le paramètre de solubilité δ de chaque composé sont déduits.

Le paramètre de Flory Huggins est calculé à partir des paramètres de la solubilité d'Hildebrand (Hildebrand, 1950) selon l'équation III.11.

$$\chi_{ij} = [(\delta_i - \delta_j)^2 * ((V_i + V_j)/2)] / RT \text{ (III. 11)}$$

ou χ_{ij} est le paramètre de Flory Huggins, V le volume des composés, δ le paramètre de solubilité d'Hildebrand, R la constante des gaz parfaits et T la température.

4.5. Etude de la dispersion ou de la séparation de phase par MFDFT

MesoDyn (méthode MFDFT) a été appliquée sur les différentes boites constituées par la quercétine, l'eau, le PLGA et le PVA. Les dimensions des boites sont de 32 nm*32 nm*32 nm, le rapport longueur de liaison/longueur de boite de 1.1543 et le coefficient de diffusion des perles de 1.10^{-7} cm²/s. 1 million de pas de calcul à un pas de temps d'intégration de 50 ns à 298 K sont réalisés. Les valeurs du bruit et de compressibilité sont de 75.002 et 10, respectivement.

5. Validation expérimentale des résultats

5.1. Détermination de la solubilité

5.1.1. Etude de la solubilité dans différents solvants organiques

Les tests de solubilité ont été effectués dans des réacteurs automatisés (Chemspeed). Le solvant (15 ml) est séché au préalable par du tamis moléculaire et introduit dans une série de réacteurs en parallèles à 323K. La solubilisation est initiée par le transfert automatique (Chemspeed) du solvant au flavonoïde qui a été placé aussi dans une autre série de réacteurs régulés à 50°C. Une concentration de 50 g/L de flavonoïde a été utilisée. Des prélèvements réguliers sont effectués pendant 6 jours. Les échantillons prélevés sont filtrés sur 0.2 μ m et injectés, après dilution, sur CLHP. Les filtres, les solvants et les vials sont séchés et maintenus à 50°C pour éviter une précipitation possible du flavonoïde.

5.1.2. Principe de la chromatographie liquide haute performance (CLHP)

La CLHP est basée sur la différence de distribution des espèces entre deux phases non miscibles (une phase mobile et une phase stationnaire). Un fluide représentant la phase mobile

parcourt une phase stationnaire (la colonne). Cette colonne peut contenir des "granulés" poreux (colonne remplie) ou être recouverte à l'intérieur d'un film mince (colonne capillaire). A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne. Il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne. Les solutés contenus dans la phase mobile seront alors retenus à des temps différents en traversant la colonne grâce aux différences d'affinité des divers constituants du mélange, pour chacune des deux phases. En effet, les solutés se déplacent tous moins vite que la phase mobile et leurs vitesses de déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés. Le temps de rétention (caractérisation qualitative) ainsi que la concentration d'un soluté donné (caractérisation quantitative) sont fournis sous forme de chromatogramme.

- **Protocole**

Les différentes analyses ont été effectuées en utilisant un système de CLHP La Chrom Elite (VWR HITACHI) composé par une pompe quaternaire (L-2130), un échantillonneur automatique (L-2200), un détecteur à barrette de diodes (L-2455) et une colonne C18 de dimensions 150x4.6 mm, maintenue à une température de 323K. Le gradient d'éluion était le même pour les différents systèmes. Il est composé d'eau (A) et de méthanol (B). Les échantillons ont été élués à un débit de 1 mL/min avec un gradient de: 95% d'eau (A) à 0 min jusqu'à 100% de (B) à 10 min, et de 95% (A) à 20 min jusqu'à la fin du programme à 30 min (Tableau III.6). Le volume d'injection est de 50 µl. La détection a été effectuée simultanément à 200, 280, 254 et 350 nm. Trois mesures ont été prises pour tous les échantillons.

Tableau III.6 : Gradient utilisé en CLHP

<i>Temps (min)</i>	<i>Solvant A (Eau)</i>	<i>Solvant B (Méthanol)</i>	<i>Débit (mL/min)</i>
0	0	100	1
10	0	100	1
20	95	5	1
30	95	5	1

Des courbes d'étalonnages ont été faites pour chaque flavonoïde (Figure III.4, Tableau III.7).

Tableau III.7 : Equations des courbes d'étalonnage des 3 flavonoïdes utilisés

<i>Equation Q</i>	$y = 213073678 x \text{ (g/L)}$
<i>Equation R</i>	$y = 188615 x \text{ (mg/L)}$

Equation I	$y = 296880000 x \text{ (g/L)}$
-------------------	---------------------------------

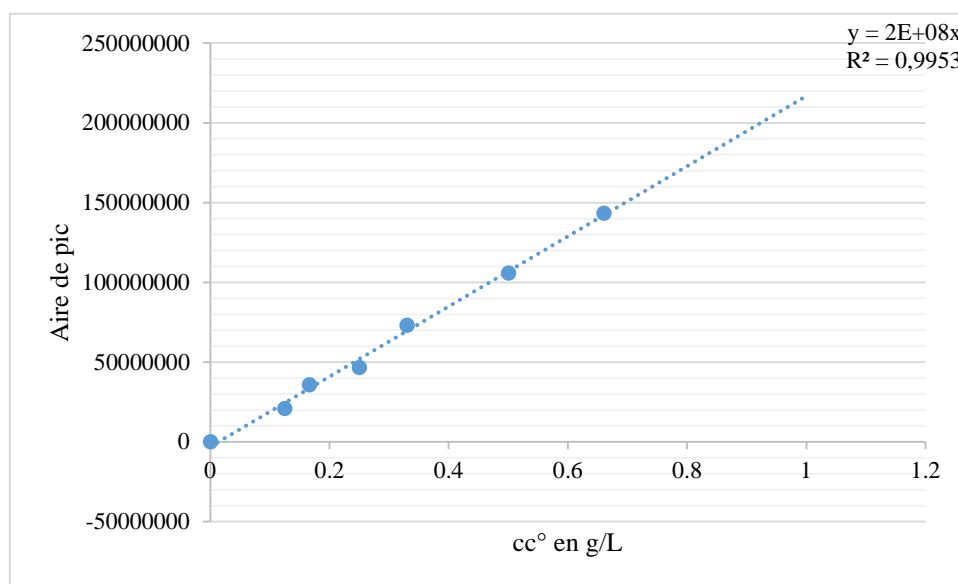


Figure III.4 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

5.2. Formation des nanoparticules

- **Principe**

La nanoprécipitation a été développée par Fessi et al. vers la fin des années 80 (Fessi et al., 1988). Elle se base sur l'utilisation de deux solvants miscibles. Un premier solvant organique servant à solubiliser le polymère ainsi que le principe actif à encapsuler et un deuxième solvant miscible avec le premier et non solvant du polymère (communément de l'eau) contenant généralement un tensioactif ou plusieurs ayant le rôle de stabilisateur des particules formées. Sous agitation, la solution organique est ajoutée goutte à goutte à la deuxième solution (phase continue). La diffusion spontanée du solvant dans la phase continue cause la précipitation du polymère, et la formation de nanoparticules solides. Le solvant organique est ensuite éliminé par évaporation ou par dialyse. Une suspension de nanoparticules est alors obtenue.

- **Protocole**

En respectant un rapport phase organique / phase aqueuse (1:2), 20 mL des solutions aqueuses de PVA à des concentrations allant de 0.5 % à 5 % sont préparées. La phase organique utilisée est une solution d'acétone (10 mL) contenant différentes concentrations de PLGA 75/25,

PLGA 65/35 et PLGA 50/50 allant de 1 à 10 g/L (1,2 et 10 g/L) et différentes concentrations de quercétine allant de 0,1 à 2 g/L (0,1, 0,5 et 2 g/L).

Après addition de la phase organique, goutte à goutte sous agitation magnétique, dans la phase aqueuse, l'acétone est évaporé à 37°C à pression réduite par évaporateur rotatif. Les particules obtenues sont lavées dans le but d'éliminer le PLGA et la quercétine non encapsulés. Le processus de lavage consiste à centrifuger trois fois la suspension de nanoparticules obtenue après évaporation de solvant (15000 tr/min pendant 5 min). Le surnageant est retiré puis remplacé par 20 mL d'eau MilliQ et la suspension est redispersée. La distribution de tailles des nanoparticules est déterminée pour chaque échantillon, par diffusion dynamique de la lumière. La morphologie des particules est observée par microscopie électronique à transmission.

5.3. Détermination de la taille des nanoparticules par diffusion dynamique de la lumière DLS

- *Principe*

La taille des nanoparticules est l'un des aspects les plus importants dans leur caractérisation. Une des méthodes les plus utilisées est la technique de la diffusion dynamique de la lumière. La diffusion dynamique de la lumière permet de déterminer le rayon hydrodynamique des particules, et donc la distribution de taille des nanoparticules en suspension. Elle se base sur le suivi de la variation de l'intensité de la lumière diffusée par des particules en mouvement brownien en fonction du temps. Ce mouvement est provoqué par les collisions aléatoires entre les particules et les molécules du solvant qui les entourent résultant en la variation de l'intensité de la lumière diffusée par les particules au cours du temps. Aussi, la rapidité du mouvement de la particule est inversement proportionnelle à sa taille. De ce fait, la fluctuation de l'intensité est plus importante pour les petites particules. Le rayon hydrodynamique R_h de la particule qui correspond au rayon d'une sphère dure ayant le même coefficient de diffusion que celui de la particule est donné par la relation de Stokes-Einstein (équation III.12):

$$R_h = k_B T / 6\pi \cdot \eta \cdot D \quad (\text{III.12})$$

ou R_h (m) est le rayon hydrodynamique des particules, D ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) le coefficient de diffusion, k_B ($1,38 \times 10^{-23} \text{ N} \cdot \text{m} \cdot \text{K}^{-1}$) la constante de Boltzmann, T la température (K), η (Pa.s) la viscosité. La

diffusion dynamique de la lumière permet de déterminer une distribution de la taille allant de quelques nanomètres jusqu'à 3 microns.

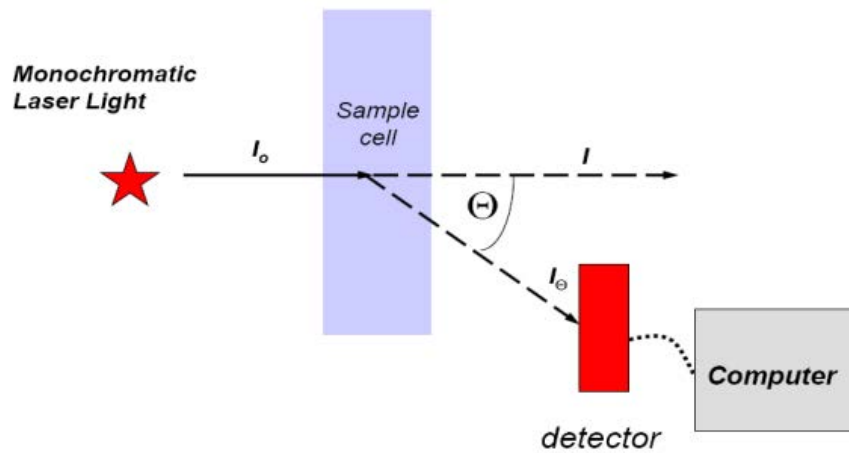


Figure III.5 : Principe de la diffusion dynamique de la lumière

- **Protocole**

Un zetasizer Nano ZS (Zetasizer V7.11, Malvern Instruments UK) a été utilisé pour caractériser les distributions de taille de nanoparticules. La taille moyenne des nanoparticules ainsi que l'indice de polydispersité (PI) ont été déterminés pour chaque échantillon.



Figure III.6 : Zetasizer Nano ZS

L'appareil est équipé d'une source de lumière laser He-Ne émettant à 532 nm, une cellule de mesure, un photomultiplicateur et un corrélateur. La mesure de la taille des particules a été effectuée dans des micro-cuves. En fonction de la concentration de l'échantillon, quelques solutions ont nécessité une ou plusieurs dilutions. L'intensité de la diffusion a été mesurée à un angle de 173° par rapport à la source lumineuse en utilisant un détecteur à système photodiode à avalanche. Cette configuration permet une réduction considérable du signal en raison des phénomènes de diffusion multiple rencontrés dans les échantillons concentrés en particules et permet de travailler dans des milieux dilués. Les fonctions d'autocorrélation de l'intensité ont été analysées par l'algorithme de CONTIN pour déterminer les coefficients de

diffusion moyens des particules, liés aux rayons hydrodynamiques par la relation de Stokes-Einstein.

5.4. Morphologie des particules par microscopie électronique en transmission (MET)

- *Principe*

La microscopie électronique en transmission est une technique de microscopie où un faisceau d'électrons est « transmis » à travers un échantillon très mince. Les effets d'interaction entre les électrons et l'échantillon donnent naissance à une image, dont la résolution peut atteindre 0,08 nm. Le microscope électronique en transmission fonctionne sur le même principe que les microscopes optiques : l'électron joue le même rôle que le photon. Des électrons accélérés par une haute tension possèdent une longueur d'onde et donc une résolution de l'ordre du picomètre.

- *Protocole*

La caractérisation morphologique des nanoparticules obtenues a été effectuée à l'aide d'un microscope électronique à transmission Philips CM200 opérant à 200 kV (résolution par point : 0,27 nm, résolution en lignes : 0,14 nm) équipé de deux caméras CCD (rapide et HR) et d'un spectromètre de dispersion d'énergie des photons X.

Les échantillons ont été préparés selon la procédure suivante: une goutte de la suspension est déposée sur une grille en cuivre. Après 3 minutes, l'excès de la solution est éliminé à l'aide d'un papier filtre. Une goutte d'une solution aqueuse d'acétate d'uranyle à 2% en masse (contrastant) est ensuite ajoutée sur la grille. Après 1 minute, l'excès de cette solution est absorbé à l'aide d'un papier filtre. La grille est finalement séchée pendant 5 minutes à l'air libre avant d'introduire l'échantillon dans le microscope.

Références bibliographiques

1. D. J. Hildebrand, R. Scott, Solubility of Non-Electrolytes. 3rd Ed. Reinhold, New York, (1949).n.d.
2. Desrosiers, Dominique. “Modélisation Du Transfert de Chaleur et D’humidité Dans Une Membrane de Cellulose.” Mémoire accepté, 2009.
3. Fessi, H., F. Puisieux, Jp Devissaguet, N. Ammoury, and S. Benita. “Nanocapsule Formation by Interfacial Polymer Deposition Following Solvent Displacement.” International Journal of Pharmaceutics 55, no. 1 (October 1, 1989): R1–4.
4. Groot, R. D., and P. B. Warren. “Dissipative Particle Dynamics: Bridging the Gap between Atomistic and Mesoscopic Simulation.” Journal of Chemical Physics 107, no. 11 (September 15, 1997): 4423–35.
5. Otto, Daniel P., Anja Otto, and Melgardt M. de Villiers. “Experimental and Mesoscale Computational Dynamics Studies of the Relationship between Solubility and Release of Quercetin from PEG Solid Dispersions.” International Journal of Pharmaceutics 456, no. 2 (November 18, 2013): 282–92.
6. Xu, Yihan, Donghun Koo, Emily A. Gerstein, and Chang-Soo Kim. “Multi-Scale Modeling of Polymer-Drug Interactions and Their Impact on the Structural Evolutions in PLGA-Tetracycline Films.” Polymer 84 (February 10, 2016): 121–31.

Résultats et discussion

Chapitre IV

IV. Choix des systèmes d'étude et mise au point de la méthodologie

Introduction

Afin d'étudier la solubilité, la stabilité et la dispersion des flavonoïdes en solution, nous avons mené une double approche de modélisation moléculaire et mésoscopique. Ces études ont porté sur la compréhension des mécanismes mis en jeu lors des étapes i) de la solubilisation et la dispersion des flavonoïdes dans les milieux organiques et ii) d'assemblages flavonoïdes/polymères en milieu aqueux. Pour mener cette étude on a dans un premier temps, choisi les systèmes d'étude puis mis au point la méthodologie de modélisation.

Ce choix a nécessité la réalisation de plusieurs essais; dans ce chapitre nous allons décrire les différentes étapes de mise au point pour aboutir à une modélisation fiable et robuste.

1. Choix du polymère

Les polymères sélectionnés pour effectuer les assemblages flavonoïdes/polymères en milieu aqueux sont biodégradables. Il s'agit de la gomme xanthane, l'acide hyaluronique et le poly(lactide-co-glycolide) (PLGA).

1.1. La gomme xanthane

C'est un hétéropolysaccharide produit par *Xanthomonas campestris*, hydrosoluble même à froid et doté de propriétés rhéologiques intéressantes, à savoir un pouvoir épaississant et suspensif, qui permet l'obtention de solutions à forte viscosité (Gamini et al. 1991). La gomme xanthane, est de ce fait, très utilisée en industrie alimentaire, de la pétrochimie, des cosmétiques et des détergents. Elle est constituée d'un nombre n d'unités pentasaccharidiques qui correspond combinaison du D-glucose, D-mannose et D-glucuronate selon un rapport molaire de 2:2:1, ainsi que des quantités variables d'acétate et de pyruvate qui dépendent principalement de la souche et des conditions de culture. La structure de base de la macromolécule correspond à celle de la cellulose (liaison $\alpha(1\Rightarrow4)$ entre les monomères de D-glucose) avec une chaîne latérale trisaccharidique (2 résidus D-mannose et un résidu D-glucuronate). Le groupement acétyl est fixé sur le C6 du mannose voisin de la chaîne cellulosique et le groupement pyruvyle est lié sous la forme acétal avec les C4 et C6 du mannose terminal (McNeely et Kang, 1973; Lawson et Sutherland, 1978). Le xanthane contient également des cations monovalents (Figure IV.1).

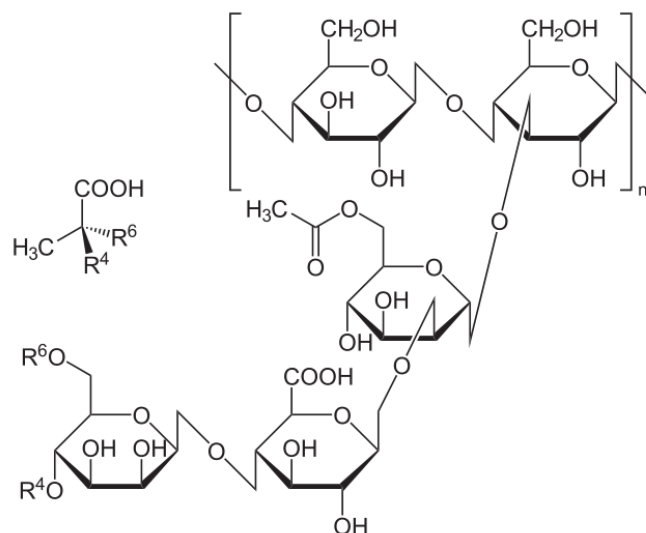


Figure IV.1 : Structure de l'unité répétitive de la gomme xanthane (la quantité de substituant est variable)

Le terme xanthane est aussi appliqué aux produits synthétisés par des souches sauvages ou mutantes, avec des chaînes latérales normales ou réduites et des teneurs en acides acétique et pyruvique variables (Tait et Sutherland, 1989) à condition que la teneur en pyruvate soit au minimum de 1,5% (w/w). Sa masse molaire varie généralement entre 4 et $12 \cdot 10^6$ g/mol. La détermination de sa masse exacte est particulièrement difficile à cause de son poids moléculaire.

1.2. L'acide hyaluronique

L'acide hyaluronique est un bipolymère à caractère hydrophile (Halake et Lee, 2017). Il est composé par n unités de disaccharides contenant des molécules d'acide D-glucuronique et de N-acétylglucosamine liées par des liaisons glycosidiques en positions β -D-(1 \Rightarrow 4) et β -D-(1 \Rightarrow 3). L'acide hyaluronique appartient au groupe des mucopolysaccharides faisant partie de la famille des glycosaminoglycans (Salwowska et al., 2016). Il est largement utilisé dans plusieurs domaines d'application (cosmétique, pharmaceutique, biomédical ...) vu qu'il est non immunogène, biodégradable et biocompatible (Zhou et al., 2017). Son application reste cependant freinée par son coût et sa faible stabilité mécanique.

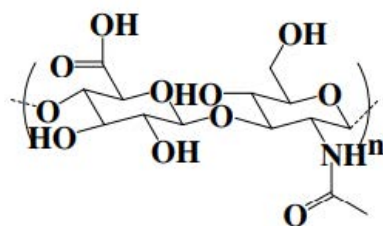


Figure IV.2 : Structure de l'unité répétitive de l'acide hyaluronique (Halake et Lee, 2017)

1.3. Le poly(lactide-co-glycolide) (PLGA)

Le poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) est un copolymère de poly(acide lactique) (PLA) et de poly(acide glycolique) (PGA). Il est largement utilisé comme dispositif de libération de principes actifs dans différents produits à libération contrôlée en raison de sa bonne biocompatibilité et dégradabilité dans les milieux physiologiques (Makadia et Siegel, 2011 ; Göpferich et al., 1996 ; Fredenberg et al., 2011). Le PLGA a la capacité d'encapsuler une large gamme de principes actifs de toutes les tailles moléculaires (Xu et al., 2017). En effet, il a été utilisé dans le développement de plusieurs systèmes polymères – principes actifs destinés à traiter diverses maladies (Alonso-Sande, 2014 ; Lee et al., 2009). Sa biodégradation libère l'acide lactique (LA) et l'acide glycolique (GA), qui sont biologiquement inertes pour les cellules en croissance et sont éliminés du corps via les voies métaboliques normales (Cabezas et al., 2014). Les différents types de PLGA sont définis selon leur rapport en masse molaire de monomères d'AL et d'AG. Ainsi un PLGA 75/25 représente un copolymère dont la composition est de 75% de PLA et 25% de PGA.

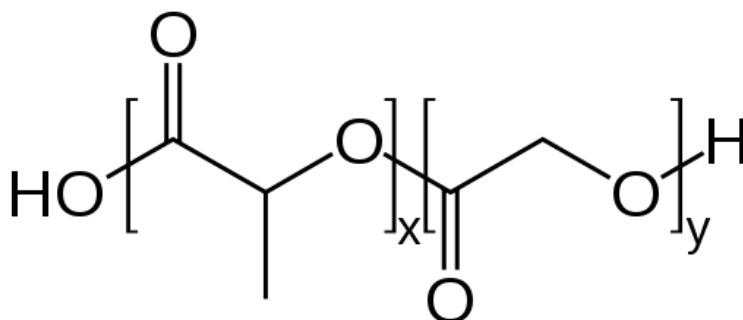


Figure IV.3 : Structure des unités répétitives du PLGA

2. Choix des flavonoïdes

Les flavonoïdes choisis font partie de la famille des flavonols : la quercétine, l'isoquercétine et la rutine. La quercétine étant une molécule aglycone ; l'isoquercétine est une quercétine-3-

glucoside et la rutine est une quercétine-3-rutinoside. Ceci permettrait d'étudier l'influence de la partie glucosidique sur les interactions flavonoïde/milieu.

2.1. La quercétine

La quercétine [2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one] ou [3,5,7,3',4' pentahydroxyflavone]. La structure chimique de la quercétine comporte un noyau commun flavone composé de deux cycles benzéniques A et B reliés entre eux par un pyrane hétérocycle C. Les propriétés antioxydantes de ce flavonoïde sont à l'origine de plusieurs fonctions biologiques attribuées à la quercétine. En effet, la quercétine a un puissant pouvoir antioxydant comparé à d'autres flavonoïdes (Harwood et al., 2007), ce qui lui confère des propriétés anti-cancérogène (Chen et al., 2010) anti-fibrotique, anticoagulante, antibactérienne, antiathérogène, antihypertenseur et antiproliférative, anti-inflammatoire (Harwood et al., 2007). Ainsi qu'une activité inhibitrice vis-à-vis de certaines enzymes notamment des oxydoréductases. Néanmoins, la solubilité de la quercétine dans l'eau à température ambiante est très faible, ce qui freine son utilisation directe dans les préparations alimentaires, cosmétiques et autres. En revanche, la solubilité de la quercétine dans les solvants organiques est très variable en fonction de la nature du solvant (Chebil et al., 2010 ; Rothwell et al., 2005).

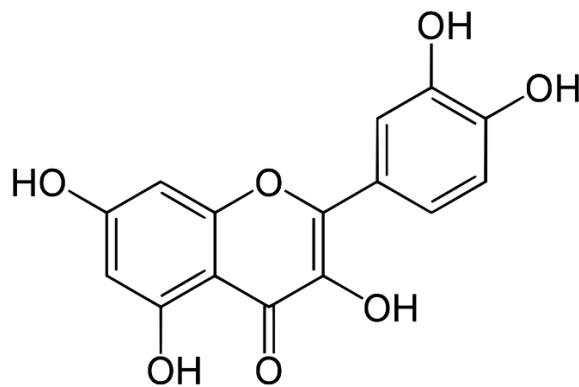


Figure IV.4 : Structure de la quercétine

2.2. L'isoquercétine

L'isoquercétine (quercétine-3-O-β-D-glucopyranoside) est une forme glycosilée de la quercétine. Le glucose est attaché à la quercétine en position C-3. On retrouve généralement ce flavonoïde dans les herbes médicinales, les fruits, les légumes et les aliments et boissons dérivés des plantes. L'isoquercétine a une biodisponibilité plus élevée que la quercétine et présente un certain nombre d'effets chimioprotecteurs à la fois *in vitro* et *in vivo*, contre le stress oxydatif, le cancer, les troubles cardiovasculaires, le diabète et les réactions allergiques.

Il a été démontré que l'isoquercétine peut atténuer la mort cellulaire induite par le stress oxydatif *in vitro* (Valentova et al., 2014). Tout comme la quercétine et la rutine, l'isoquercétine présente une faible solubilité et stabilité en milieux aqueux et lipophiliques (Chebil et al., 2010).

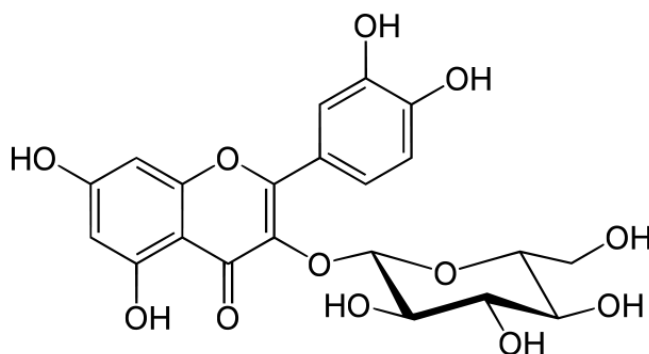


Figure IV.5 : Structure de l'isoquercétine

2.3. La rutine

La rutine (30, 40, 5, 7-tétrahydroxy-flavone-3-rutinoside) est dotée de propriétés cliniques très intéressantes. Elle est bénéfique dans la prévention de certaines maladies et dans la stabilité des génomes (Sharma et al., 2013). Elle est aussi recommandée dans le cas des varices, saignements internes ou encore les hémorroïdes. Avec la quercétine, elles sont connues en tant que vitamine P (Manach et al., 1997). La rutine est présente dans plus de 70 plantes différentes et dans plus de 860 compléments alimentaires aux états unis (Gullon et al., 2017). Mais son utilisation seule est limitée par sa faible solubilité en milieu aqueux, liposolubilité, biodisponibilité, stabilité et perméabilité membranaire. En effet sa solubilité, à température ambiante est de 0,13 g/L dans l'eau, 55 g/L dans le méthanol et 5,5 g/L dans l'éthanol (Krewson et Naghski, 1952).

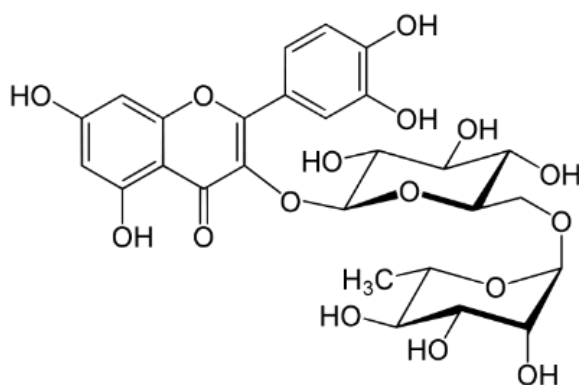


Figure IV.6 : Structure de la rutine

3. Présentation des systèmes étudiés par modélisation moléculaire et méso-modélisation

3.1. Etude de la structure des flavonoïdes à l'échelle moléculaire et mésoscopique : définition des modèles gros grains

La décomposition des flavonoïdes en modèles gros grain est délicate. Cela est dû à l'absence de formules bien définies pour la détermination du nombre de perles comme dans le cas des polymères (méthode de la taille du polymère ou du ratio caractéristique), mais aussi à la rareté d'études s'intéressant à la méso-modélisation des flavonoïdes. Le seul travail, à notre connaissance, présentant des résultats de mésomodélisation de composés phénoliques (quercétine) a été publié par Otto et al. en 2013 (Otto et al., 2013).

Comme il a été indiqué dans le chapitre matériel et Méthodes, la répartition globale des perles a été toujours la même. Cependant, l'ajout d'atomes d'hydrogène au niveau des endroits de coupures, ainsi que la répartition d'atome d'oxygène commun à deux perles ont fait l'objet de différents essais. La Figure IV.7 montre la démarche suivie pour la rutine. Il s'agit du flavonoïde le plus complexe parmi les trois flavonoïdes étudiés. Pour la quercétine, la partie sucre est remplacée par un groupement OH. L'isoquercétine est découpée exactement de la même manière que la rutine avec un sucre en moins.

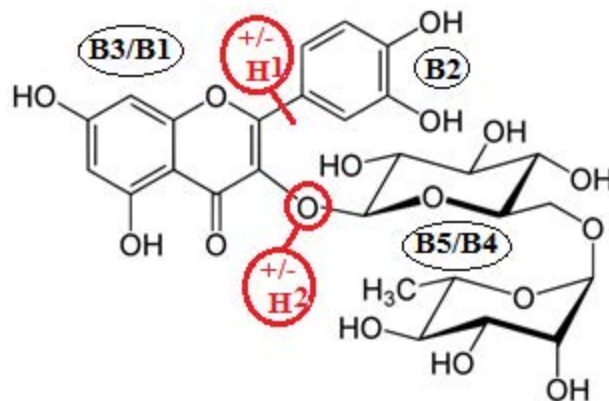


Figure IV.7 : Différentes possibilités de découpage avec ou sans H et avec ou sans groupement OH (cas de la rutine)

Les différentes combinaisons de perles testées sont regroupées dans le Tableau IV.1 :

Tableau IV.1 : Différents modèles gros grains testés pour les 3 flavonoïdes

Flavonoïde / composition	Perle 1	Perle 2	Perle 3
<i>Quercétine 1</i>	B1 avec H1	B2 avec H1	-
<i>Quercétine 2</i>	B1 sans H1	B2 sans H1	-
<i>Quercétine 3</i>	B1 avec H1	B2 sans H1	-
<i>Quercétine 4</i>	B1 sans H1	B2 avec H1	-
<i>Rutine 1</i>	B3 avec H1 et OH2	B2 avec H1	B5 avec H
<i>Rutine 2</i>	B3 avec H1 et H2	B2 avec H1	B5 avec OH2
<i>Rutine 3</i>	B3 sans H1 et OH2	B2 avec H1	B5 avec H
<i>Rutine 4</i>	B3 sans H1 et H2	B2 avec H1	B5 avec OH2
<i>Rutine 5</i>	B3 avec H1 sans OH2	B2 avec H1	B5 avec OH2
<i>Rutine 6</i>	B3 sans H1 et sans OH2	B2 avec H1	B5 avec OH
<i>Rutine 7</i>	B3 avec H1 et OH2	B2 sans H1	B5 avec H
<i>Rutine 8</i>	B3 avec H1 et H2	B2 sans H1	B5 avec OH2
<i>Rutine 9</i>	B3 sans H1 et OH2	B2 sans H1	B5 avec H
<i>Rutine 10</i>	B3 sans H1 et H2	B2 sans H1	B5 avec OH2
<i>Rutine 11</i>	B3 avec H1 sans OH2	B2 sans H1	B5 avec OH2
<i>Rutine 12</i>	B3 sans H1 et sans OH2	B2 sans H1	B5 avec OH
<i>Rutine 13</i>	B3 avec H1 et OH2	B2 avec H1	B5 sans H
<i>Rutine 14</i>	B3 avec H1 et H2	B2 avec H1	B5 avec O
<i>Rutine 15</i>	B3 sans H1 et OH2	B2 avec H1	B5 sans H
<i>Rutine 16</i>	B3 sans H1 et H2	B2 avec H1	B5 avec O
<i>Rutine 17</i>	B3 avec H1 sans OH2	B2 avec H1	B5 avec O
<i>Rutine 18</i>	B3 sans H1 et sans OH2	B2 avec H1	B5 avec O
<i>Rutine 19</i>	B3 avec H1 et OH2	B2 sans H1	B5 sans H
<i>Rutine 20</i>	B3 avec H1 et H2	B2 sans H1	B5 avec O
<i>Rutine 21</i>	B3 sans H1 et OH2	B2 sans H1	B5 sans H
<i>Rutine 22</i>	B3 sans H1 et H2	B2 sans H1	B5 avec O
<i>Rutine 23</i>	B3 avec H1 sans OH2	B2 sans H1	B5 avec O
<i>Rutine 24</i>	B3 sans H1 et sans OH2	B2 sans H1	B5 avec O

* L'isoquercétine a subi le même traitement que la rutine en remplaçant l'unité B5 par l'unité B4

L'équilibre des charges ainsi que la minimisation de l'énergie des différentes combinaisons a été effectué par le biais des différents potentiels et paramètres fournis par le champ de force COMPASS permettant de décrire l'énergie potentielle des structures et de trouver la configuration la plus stable énergétiquement. Les combinaisons les plus stables énergétiquement sont regroupées dans le Tableau IV.2.

Tableau IV.2 : Modèles gros grains les plus stables énergétiquement

<i>Flavonoïde / composition</i>	<i>Perle 1</i>	<i>Perle 2</i>	<i>Perle 3</i>
Quercetine 3	B1 avec H1	B2 sans H1	-
Rutine 11	B3 avec H1 sans OH2	B2 sans H1	B5 avec OH2
Isoquercitrine 11	B3 avec H1 sans OH2	B2 sans H1	B4 avec OH2

Ces perles seront utilisées dans la suite du travail et seront appelées B1, B3, B2, B4 et B5.

3.2. Système gomme xanthane/ rutine

Le système étudié est composé, expérimentalement, de deux phases miscibles. Une phase aqueuse contenant le polymère et une phase organique (éthanol) contenant le flavonoïde. Le ratio phase organique / phase aqueuse est de 1:4. La concentration de xanthane est de 0,3% (W/W) et la concentration de la rutine est de 0,3% (W/W). Afin d'étudier l'organisation de ce système, des simulations à l'échelle moléculaire et mésoscopique ont été mises au point.

3.2.1. Définition du modèle gros grain

Comme il a été indiqué dans le chapitre matériel et méthodes, la rutine a été représentée par trois perles B3 (cycle A et cycle C du flavonoïde), B2 (cycle B) et B5 (partie sucre). Les deux solvants étant de petites molécules ont été représentés par une perle chacun. Très peu de travaux se sont intéressés à la modélisation moléculaire et la méso-modélisation de la gomme xanthane. Li et al. (Li et al., 2005) ont étudié les interactions entre la gomme Xanthane et le Nonyphenyloxypropyl β -Hydroxyltriméthylammonium Bromide en solution aqueuse. Ils ont utilisé l'équation IV.1 pour déterminer le nombre de perles du polysaccharide.

$$n = \frac{N^2 l^2}{R_{l,0}^2} \quad (\text{IV.1})$$

avec N = le degré de polymérisation, l = la taille du monomère et $R_{l,0}$ = La distance du bout à bout de la chaîne atomique. N et l ont été obtenus de la littérature (Zhu et al., 1996). Le $R_{l,0}$ a été déterminé par la méthode RMMC (RIS Metropolis Monte Carlo) (Lam et Goldbeck-wood, 2003). En adoptant cette démarche, la gomme xanthane a été représentée par une valeur de n

= 100 perles. Chaque perle contient un monomère de la gomme xanthane (Li et al., 2005 ; Li et al., 2007).

Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé cette approche. Ainsi, les différentes simulations des systèmes rutine/gomme xanthane/ éthanol/eau ont été conduites avec une gomme xanthane, composée de 100 unités, d'une masse de 93300 g/mol (933 g/mol par unité polymérique).

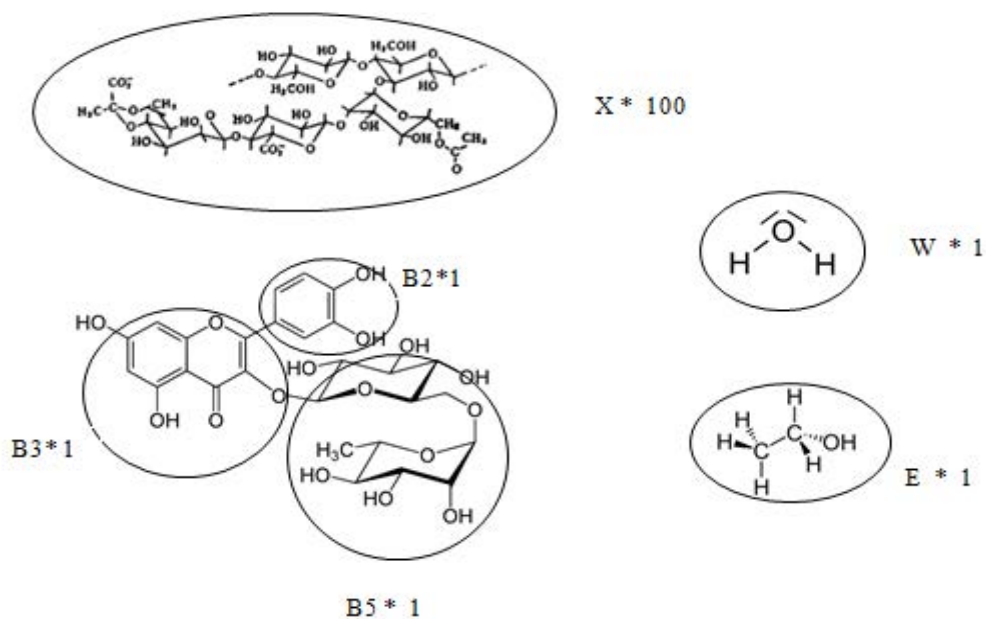


Figure IV.8 : Définition des modèles gros grains du système rutine (B3, B1, B5) / xanthane (X) / eau (W) / éthanol (E)

3.2.2. Etude de l'organisation du système rutine/gomme xanthane/eau/éthanol par modélisation moléculaire et mésomodélisation

Après avoir défini les modèles gros grains, ces structures ont été optimisées jusqu'à obtention d'une énergie stable et la plus basse possible en utilisant le champ de force COMPASS. Ensuite, les paramètres d'interaction (paramètres de Flory Huggins) ont été calculés par la méthode basée sur l'énergie du mélange (Module Blends dans Materials Studio 7.0). Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau IV.3.

Tableau IV.3 : Valeurs des paramètres de Flory Huggins obtenues à 298 K par le champ de force COMPASS

	B3	B2	B5	X	E	W
B3	0					
B2	3,880	0				
B5	5,680	-10,620	0			
X	<u>-106,840</u>	<u>-129,790</u>	<u>-101,850</u>	0		
E	12,680	0,001	10,450	<u>-96,790</u>	0	
W	15,370	0,650	9,310	<u>-102,600</u>	0,111	0

Comme le montre le Tableau IV.3, les valeurs obtenues pour les interactions entre perle de gomme xanthane et les autres perles, sont très négatives et difficilement interprétables. On sait par exemple que la gomme xanthane est soluble dans l'eau, on doit alors avoir une valeur du paramètre de Flory Huggins proche de 0,5 or l'interaction X-W est de -102.6. Pour remédier à ce problème, le monomère (perle X) a été modifié en changeant à chaque fois les hydrogènes aux extrémités (avec et sans). Les résultats obtenus ne montrent pas de changement au niveau des paramètres d'interactions. Malgré qu'il est développé pour représenter un large spectre de polymères et de molécules, il semble que le champ de forces COMPASS ne représente pas bien les perles de la gomme xanthane. Un autre champ de forces, DREIDING, a été testé pour voir si ces erreurs proviennent du champ de force. Les résultats obtenus ne sont toujours pas cohérents (Tableau IV.4). Ceci montre que le modèle développé présente des limites et qu'il va falloir l'optimiser.

Tableau IV.4 : Valeurs des paramètres de Flory Huggins obtenues à 298 K par le champ de force DREIDING

	B3	B2	B5	X	E	W
B3	0					
B2	1,960	0				
B5	8,690	1,096	0			
X	<u>8,940</u>	<u>-35,530</u>	<u>-34,630</u>	0		
E	15,540	3,400	5,880	<u>-21,820</u>	0	
W	-28,900	6,480	8,510	<u>-29,090</u>	1,480	0

3.3. Système acide hyaluronique/rutine

En parallèle de l'étude de l'assemblage gomme xanthane/rutine/eau/éthanol, l'assemblage acide hyaluronique/rutine/eau/éthanol a été simulé. Expérimentalement, ce système est composé de deux phases, une phase organique et une phase aqueuse. La rutine est solubilisée

dans l'éthanol avec une concentration de 0,3 % et l'acide hyaluronique dans l'eau avec une concentration de 0,3 %. Le rapport phase organique / phase aqueuse est de 1 :4.

3.3.1. Définition du modèle gros grain

La rutine, l'eau et l'éthanol ont été définis de la même manière que pour le système gomme xanthane/rutine. Pour calculer le nombre de perles représentant une chaîne d'acide hyaluronique, la méthode du ratio caractéristique a été utilisée selon l'équation IV.2.

$$n_{DPD} = \frac{\overline{M_w}}{M_n C_n} \quad (\text{IV. 2})$$

Où $\overline{M_w}$ est la masse moléculaire moyenne du polymère, M_n est la masse moléculaire du motif de répétition du polymère « monomère » et C_n est le ratio caractéristique d'un polymère de taille définie.

Selon Dumitriu (Dumitriu, 2004) le ratio caractéristique infini C_∞ de l'acide hyaluronique est de 6. Il a été reporté que pour la définition du nombre de perles pour des calculs de méso-modélisation, l'utilisation de C_∞ ou de C_n n'influence pas le résultat final. Le ratio caractéristique a été fixé à 6. La masse moléculaire moyenne de l'acide hyaluronique est de $1,65 \cdot 10^6$ g/mol, la masse du monomère est de 379,32 g/mol ce qui forme un polysaccharide de 4350 monomères. Le nombre de perles n est de 725. Chaque perle est composée de 6 monomères (Figure IV.9).

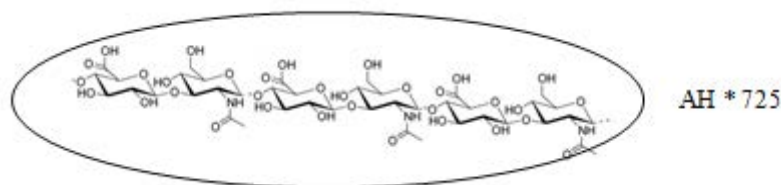


Figure IV.9 : Modèle gros grain du système de l'acide hyaluronique avec 6 monomères par perle

3.3.2. Etude de l'organisation du système acide hyaluronique/rutine par modélisation moléculaire et méso-modélisation

La même démarche que précédemment a été appliquée. La grille regroupant les paramètres d'interactions de Flory Huggins est présentée dans le Tableau IV.5.

Tableau IV.5 : Valeurs de paramètres de Flory Huggins obtenus à 298K

	B3	B2	B5	HA	E	W
B3	0					
B2	3.540	0				
B5	6.530	-9.830	0			
HA	6.330	6.420	-27.540	0		
E	12.650	0.195	10.450	16.440	0	
W	15.370	0.630	9.310	<u>18.990</u>	0.152	0

Comme le montre le Tableau IV.5, les valeurs obtenues sont largement positives pour toutes les interactions. Pour l'interaction acide hyaluronique-eau la valeur obtenue est de 18,99. Or l'acide hyaluronique est très soluble dans l'eau (46,6 mg/mL (Tetko et al., 2005)). Par conséquent, la valeur obtenue doit avoisiner 0,5. Ceci montre que le modèle développé présente des limites et qu'il va falloir l'optimiser.

3.4. Etude de l'organisation du système PLGA/quercétine par modélisation moléculaire et mésoscopique

Un autre système polymère/flavonoïde (PLGA/quercétine) a été étudié. Expérimentalement, le système est composé de deux phases, une première phase organique (soit acétone, soit un mélange acétone - dichlorométhane) pour solubiliser le PLGA et la Q et une deuxième phase aqueuse contenant le PVA. Afin de simuler ce système à l'échelle moléculaire et mésoscopique, la même approche que précédemment a été utilisée. Après avoir testé le calcul des paramètres de Flory Huggins par Blends, on a choisi d'étudier le système avec des paramètres de Flory Huggins obtenus par la méthode de la solubilité expliquée dans le chapitre VI. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau IV.6.

Tableau IV.6 : Valeurs de paramètres de Flory Huggins obtenus à 298K

	AL	AG	B1	B2	PVA	W	AC	DM
AL	0							
AG	1,403	0						
B1	0,185	3,681	0					
B2	0,112	2,571	0,002	0				
PVA	0,112	2,158	5,822E-05	0,001	0			
W	9,13	2,313	18,038	14,16	11,222	0		
AC	1,707	6,178	1,313	1,093	0,865	23,47	0	
DM	2,434	7,103	2,217	1,783	1,416	25,708	0,099	0

Ces résultats ont permis de continuer l'étude du système PLGA/quercétine par dynamique de la particule dissipative et par Mesodyn.

3.4.1. Détermination du nombre de perles par chaîne polymérique de PLGA et de PVA

Dans la partie Matériel et Méthodes sont présentées les démarches de découpage du PLGA et du PVA. Pour calculer le nombre de perles n par chaîne polymérique, on s'est basé sur le ratio caractéristique des polymères C_n . Le PLGA est un copolymère, on a calculé le nombre de perles de PLA et le nombre de perles de PGA et on les a regroupées dans une seule chaîne polymérique selon leur distribution massique dans le PLGA. Tous les ratios caractéristiques ont été obtenus par la méthode QSPR (module Synthia dans Materials Studio 7.0) à 298 K (Tableau IV.7).

Tableau IV.7 : Nombre de perles par chaîne polymérique pour le PLGA 75/25 et le PVA

Polymère	Ratio caractéristique c_n (298k)	Masse moléculaire moyenne (g/mol)	Masse moléculaire de l'unité monomérique (g/mol)	N_{dpd}	Nombre de monomères par perle
PLA	$2,86 \approx 3$	75% de 95500 g/mol = 71 625 g/mol	90,08 g/mol	265	-
PGA	$2,86 \approx 3$	25% de 95500 g/mol = 23 875 g/mol	76,05 g/mol	105	-
PLGA 75/25	3	95500 g/mol	$\overline{83,065}$ g/mol	370	3
PVA	$2,87 \approx 3$	93500 g/mol	44,0526 g/mol	707	3

* Toutes les abréviations sont détaillées dans la liste des abréviations

* La valeur du ratio caractéristique a été arrondie à 3 afin d'obtenir un nombre entier de perles.

3.4.2. Détermination de la masse et de la taille des perles

La détermination de la taille des perles, b , est basée sur le segment statistique des polymères. Ce paramètre est obtenu à partir du ratio caractéristique du polymère et de la longueur du monomère (en Å) obtenus par le module Synthia comme le montre l'équation IV.3.

$$b = C_{\infty} l \quad (\text{IV.3})$$

La masse des différentes perles est calculée à partir du nombre de monomères par perle et de leur masse molaire. Elle est calculée selon l'équation IV.4.

$$m = M_m C_n / N_A \quad (\text{IV.4})$$

ou M_m la masse molaire du monomère, C_n le ratio caractéristique et N_A le nombre d'Avogadro.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau IV.8.

Tableau IV.8 : Détermination de la masse et de la taille des perles de polymères

Perle	$l(\text{Å})$	C_{∞}/C_n	$M_m(\text{g/mol})$	$N_A(\text{mol}^{-1})$	$b(\text{Å})$	m (g/amu)
PLA (3)	4,053	3	9,08	$6,022 \cdot 10^{23}$	12	$4,48 \cdot 10^{-22}$ g/ 270 amu
PGA (3)	4,053	3	76,05	$6,022 \cdot 10^{23}$	12	$3,78 \cdot 10^{-22}$ g/ 228 amu
PVA (3)	3,55	3	44,05	$6,022 \cdot 10^{23}$	10	$2,2 \cdot 10^{-22}$ g / 132 amu

3.4.3. Détermination des volumes des perles

Le volume des différentes perles a été calculé en se basant sur leur masse molaire (g/mol) et leur densité (g/cm³) obtenues par le module Forcite dans Materials Studio 7.0. Le Tableau IV.9 regroupe les volumes des différentes perles.

Tableau IV.9 : Volume des différentes perles du système étudié

	Masse molaire (g/mol)	Densité (g/cm ³)	Volume molaire (cm ³ /mol)	Volume (Å ³)
PLA (3)	216	1,21	178,51	296
PGA (3)	174	1,31	133	220
PVA (3)	132	1,05	125,71	208
B1	193	1,49	129,5	215
B2	109	1,36	80,14	133,1
W (6)	108	0,988	109,3	181,5
DM	84,93	1,33	63,95	106
AC	58,08	0,791	73,42	122
AL	72	1,197	60,16	99,9
AG	58	1,295	44,77	74,34
PVA	44	0,793	55,42	92

La taille de la perle d'eau est déterminée en prenant en considération la taille des autres perles du système. Une fois sa masse et sa taille définie, elles seront appliquées aux différentes perles du système. En effet, même si des volumes et des masses différents n'ont pas une influence sur la structure et la morphologie du système simulé, il est préférable de définir un volume et une masse communs à toutes les perles. Comme l'explique Groot et Rabone (Groot et Rabone, 2001) pour définir l'unité de conversion des unités réduites en unités physiques, il est nécessaire d'avoir des perles de volumes et de masses proches, surtout, dans le cas des systèmes visant à simuler des quantités réelles ou de prédire des propriétés tel que l'énergie de surface (Jarray et al., 2016). Il est aussi préconisé de ne pas utiliser un grand nombre de molécules d'eau par perle pour éviter la limitation de la diffusivité de l'eau dans la structure étudiée. Aussi, il a été démontré que le fait de grouper plusieurs molécules d'eau dans une perle n'affecte pas l'énergie cinétique moyenne du système (Flekkoy et al., 2000 ; Español et al., 1997), un nombre de molécule supérieur à 10 confronte le système au critère de congélation de Hansen – Verlet (_Schiff) (Hansen et Verlet, 1969, Hansen et Schiff, 1973). Ayant des perles de volumes différents, le nombre de molécules d'eau choisi a été représentatif de ces divergences. Pour cela, on a choisi 6 molécules d'eau par perle et donc un volume molaire de 109,5 cm³/mol.

3.4.4. Définition du modèle gros grain et détermination des paramètres nécessaires pour les simulations par Dynamique de la Particule Dissipative DPD (adaptée de Jarray et al. (Jarray et al., 2016))

Afin d'initier les simulations par DPD, il faut tout d'abord commencer par définir quelques paramètres. En effet, la méso-modélisation par dynamique de la particule dissipative est effectuée en unités réduites déduites des unités physiques.

Le nombre de densité réduit $\bar{\rho}$ est obtenu à partir de l'équation IV.5

$$\bar{\rho} = \rho r_c^3 \quad (\text{IV.5})$$

ou $\bar{\rho}$ le nombre de perles dans une maille de simulation cubique et r_c le « cut-off radius » l'unité de longueur dans le système. La valeur de $\bar{\rho}$ est 3 unités DPD.

Le degré de «coarse graining» (N_m) représente le nombre de molécules d'eau par perles ($N_m = 6$), il est défini par l'équation IV.6.

$$N_m = \frac{\bar{\rho}_{\text{molécules}}}{\bar{\rho}} \quad (\text{IV.6})$$

$\bar{\rho}_{molécules}$ est le nombre de molécules dans une cellule de simulation cubique d'un volume $(r_c)^3 \cdot \bar{\rho}_{molécules}$ a donc une valeur de 18. Le rayon «cut-off» est calculé par l'équation IV.7.

$$r_c = \left(\frac{\bar{\rho}}{\rho}\right)^{\frac{1}{3}} = (\bar{\rho}V_p)^{\frac{1}{3}} \quad (IV.7)$$

ou V_p le volume de la perle, d'où r_c a une valeur de 1 en unités réduites et de 8,14 Å en unités physiques.

La masse d'une perle en unités réduites correspond à la masse de 6 molécules d'eau. Elle est obtenue par l'équation IV.8.

$$\bar{m} = m_{perle} = N_m m_{Eau}^m \quad (IV.8)$$

D'où une valeur de la masse d'une perle est égale à 108 (unités réduites).

Les paramètres de répulsion ont été déduits à partir des paramètres d'interaction de Flory Huggins χ_{ij} , obtenus par la méthode développée pour le calcul de la solubilité.

Après avoir obtenu les paramètres d'interactions, les paramètres de répulsion entre perles de même nature et les différents couples de perles doivent être déterminés. La valeur de répulsion entre perles de même nature a_{ii} est obtenue par l'équation IV.9.

$$a_{ii} = (16N_m - 1) \frac{k_B T}{2\alpha\rho r_c^4} \quad (IV.9)$$

Après simplification on obtient l'équation IV.10.

$$a_{ii} = (16N_m - 1)/2\alpha\bar{\rho} \quad (IV.10)$$

ou α un paramètre d'ajustement d'une valeur de 0,101 selon Jarray et al. (Jarray et al., 2016).

D'où $a_{ii} = 157$.

Les paramètres de répulsion entre perles de nature différente sont calculés par l'équation IV.11.

$$\bar{a}_{ij} = \bar{a}_{ii} + \frac{\chi_{ij}}{0.286} \quad (IV.11)$$

Les valeurs de a_{ij} sont présentées dans les Tableaux IV.10 et IV.11.

Tableau IV.10 : Paramètres de répulsion (perles de polymères contenant trois monomères)

	PLA (3)	PGA (3)	PVA (3)	B1	B2	W	AC
PLA (3)	157						
PGA (3)	159,256	157					
PVA (3)	157,412	157,526	157				
B1	160,654	157,158	158,334	157			
B2	160,463	157,202	158,283	157,007	157		
W	271,362	235,386	239,724	220,072	206,510	157	
AC	158,6	158,308	158,264	161,701	160,484	230,918	157

Tableau IV.11 : Paramètres de répulsion (perles de polymères contenant 1 monomère)

	AL	AG	PVA	B 1	B2	W	AC
AL	157						
AG	161,908	157					
PVA	157,391	164,547	157				
B1	157,665	170,230	157,000	157			
B2	157,396	166,066	157,003	157,007	157		
W	188,947	165,088	196,237	220,072	206,510	157	
AC	162,970	178,604	160,025	161,701	160,484	230,918	157

Pour avoir une vision globale sur l'ensemble de paramétrages calculés pour initier la modélisation, l'ensemble des données obtenues sont résumées dans le Tableau IV.12.

Tableau IV.12 : Tableau récapitulatif des paramètres de calcul DPD

Paramètre d'entrée de DPD	Valeur unité réduite	Valeur unité physique
$\bar{\rho}$	3	-
ρ	-	1 g/cm ³
r_c	1	8,14 Å
$\bar{\rho}_{\text{Molécules}}$	18	-
N_M	6	-
V_p	-	180 Å
\bar{m}	108	108 amu
Cr (constante du ressort)	4	-
δ (paramètre de dissipation)	4.5	-
Taille de la boîte de simulation	$30*30*30 r_c$	$244 \text{ Å} * 244 \text{ Å} * 244 \text{ Å}$
Energie maximale tolérée	-	$7,5 * 10^{-6}$ kcal/mol
Force maximale tolérée	-	$7,5 * 10^{-5}$ kcal/mol/Å
Température	1,0403	298 K
Pas de temps	0,05	250 fs
Temps total de simulation	50 000	250 μ s
Nombre de pas de simulation	1 million	1 million

3.4.5. Composition des systèmes étudiés

Comme il est indiqué en détail dans le chapitre VI, après la détermination des différents paramètres nécessaires pour initier le calcul, des boîtes de simulation contenant les différents composés à des concentrations variables ont été construites. Ces boîtes ont été optimisées à une pression de 0.1 GPa en alternant l'application des algorithmes *Steepest descent* et *Conjugate gradient* jusqu'à stabilisation de l'énergie et de la taille de la boîte. Ensuite, sur ces systèmes les calculs DPD ont été effectués, mais le système ne converge pas.

Plusieurs essais ont été effectués avec des systèmes allégés. Des chaînes polymériques de 20 perles ont été définies contenant un monomère chacune. En effet, il a été reporté par Xu et al. (Xu et al., 2016) que des chaînes polymériques constituées de 50 monomères peuvent très bien représenter le système. Aussi Desrosiers (Desrosiers, 2009), a simplifié le polymère de cellulose à 20 perles, sachant que la chaîne polymérique pouvait atteindre 4000 perles, sans effets sur les résultats générés suite à la simulation par DPD. Cependant, dans notre cas,

même en simplifiant le système, les dynamiques générées par la méthode DPD n'étaient pas concluantes. Ceci, peut être expliqué par les limites de la puissance des calculs et les besoins énormes en temps et en mémoire pour pouvoir simuler les systèmes choisis. A cause de cette limitation, les résultats issus de ce système n'ont pas été exploités et ne sont pas présentés dans le cadre de cette thèse.

Les résultats des simulations des systèmes PLGA/quercétine par la méthode MesoDyn seront présentés dans le chapitre VI.

Conclusion

Ce chapitre résume les différentes étapes de mises au point et les difficultés rencontrées pour créer les systèmes à étudier et initier le calcul de modélisation. Pour réaliser les simulations, plusieurs systèmes polymère/flavonoïde ont été sélectionnés et modélisés. Cette étape de mise au point des systèmes préalables aux calculs par DPD et MesoDyn, montrent qu'il est important de bien identifier les limites du système étudié (paramètres d'interactions, nombre de monomère par perle, ...). En effet, souvent, la complexité du système étudié freine les simulations. Il est aussi nécessaire de tenir compte des contraintes liées aux ressources informatiques qui peuvent être le goulot d'étranglement pour réaliser des simulations mésoscopiques des systèmes complexes. Nonobstant des difficultés rencontrées, nous avons réussi à mettre en place une méthodologie claire applicable à différents systèmes et adaptée aux ressources informatiques disponibles actuellement au laboratoire.

Les résultats obtenus dans ce chapitre constituent une base pour la conduite des chapitres qui suivront.

Références bibliographiques

1. Alonso-Sande, Maria, Anne des Rieux, Virginie Fievez, Bruno Sarmento, Araceli Delgado, Carmen Evora, Carmen Remuñán-López, Véronique Prémat, and Maria J. Alonso. "Development of PLGA-Mannosamine Nanoparticles as Oral Protein Carriers." *Biomacromolecules* 14, no. 11 (November 11, 2013): 4046–52.
2. Cabezas, Leticia I., Ignacio Gracia, Antonio de Lucas, and Juan F. Rodríguez. "Novel Model for the Description of the Controlled Release of 5-Fluorouracil from PLGA and PLA Foamed Scaffolds Impregnated in Supercritical CO₂." *Industrial & Engineering Chemistry Research* 53, no. 40 (October 8, 2014): 15374–82.
3. Chebil, Latifa, Christophe Chipot, Fabien Archambault, Catherine Humeau, Jean Marc Engasser, Mohamed Ghoul, and Francois Dehez. "Solubilities Inferred from the Combination of Experiment and Simulation. Case Study of Quercetin in a Variety of Solvents." *Journal of Physical Chemistry B* 114, no. 38 (September 30, 2010): 12308–13.
4. Chen, Chen, Jane Zhou, and Chunyan Ji. "Quercetin: A Potential Drug to Reverse Multidrug Resistance." *Life Sciences* 87, no. 11 (September 11, 2010): 333–38.
5. Desrosiers, Dominique. "Modélisation du transfert de chaleur et d'humidité dans une membrane de cellulose." Mémoire accepté, 2009.
6. Dumitriu, Severian. *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility, Second Edition*. CRC Press, 2004.
7. Español, Pep, ET Patrick Warren. *Statistical Mechanics of Dissipative Particle Dynamics*, 1995.
8. Flekkøy, E. G., G. Wagner, and J. Feder. 2000. "Hybrid Model for Combined Particle and Continuum Dynamics." *Europhysics Letters* 52 (3):271–76.
9. Fredenberg, Susanne, Marie Wahlgren, Mats Reslow, and Anders Axelsson. "The Mechanisms of Drug Release in Poly(lactic-Co-Glycolic Acid)-Based Drug Delivery Systems--a Review." *International Journal of Pharmaceutics* 415, no. 1–2 (August 30, 2011): 34–52.
10. Gamini, A., J. de Bleijser, and J. C. Leyte. "Physico-Chemical Properties of Aqueous Solutions of Xanthan: An N.M.R. Study." *Carbohydrate Research* 220 (November 11, 1991): 33–47.
11. Göpferich, Achim. "Mechanisms of Polymer Degradation and Erosion." *Biomaterials, Polymer Scaffolding and Hard Tissue Engineering*, 17, no. 2 (January 1, 1996): 103–14.
12. Gullon, Beatriz, Thelmo A. Lu-Chau, Maria Teresa Moreira, Juan M. Lema, and Gemma Eibes. 2017. "Rutin: A Review on Extraction, Identification and Purification Methods, Biological Activities and Approaches to Enhance Its Bioavailability." *Trends in Food Science & Technology* 67 (September):220–35.
13. Groot, R. D., and K. L. Rabone. "Mesoscopic Simulation of Cell Membrane Damage, Morphology Change and Rupture by Nonionic Surfactants." *Biophysical Journal* 81, no. 2 (août 2001): 725–36.

14. Halake, Kantappa, and Jonghwi Lee. "Functional Hyaluronic Acid Conjugates Based on Natural Polyphenols Exhibit Antioxidant, Adhesive, Gelation, and Self-Healing Properties." *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 54 (October 25, 2017): 44–51.
15. Hansen, Jean-Pierre, and Daniel Schiff. 1973. "Influence of Interatomic Repulsion on the Structure of Liquids at Melting." *Molecular Physics* 25 (6):1281–90.
16. Hansen, Jean-Pierre, and Loup Verlet. 1969. "Phase Transitions of the Lennard-Jones System." *Physical Review* 184 (1):151–61.
17. Harwood, M., B. Danielewska-Nikiel, J. F. Borzelleca, G. W. Flamm, G. M. Williams, and T. C. Lines. "A Critical Review of the Data Related to the Safety of Quercetin and Lack of Evidence of in Vivo Toxicity, Including Lack of Genotoxic/Carcinogenic Properties." *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 45, no. 11 (November 2007): 2179–2205.
18. Jarray, Ahmed, Vincent Gerbaud, and Mehrdji Hemati. "Stearic Acid Crystals Stabilization in Aqueous Polymeric Dispersions." *Chemical Engineering Research and Design*, 7th International Granulation Workshop, 2015, 110 (June 2016): 220–32.
19. Krewson, C. F., and J. Naghski. 1952. "Some Physical Properties of Rutin." *Journal of the American Pharmaceutical Association* 41 (11):582–87.
20. Lam, Yeng-Ming, and Gerhard Goldbeck-Wood. "Mesoscale Simulation of Block Copolymers in Aqueous Solution: Parameterisation, Micelle Growth Kinetics and the Effect of Temperature and Concentration Morphology." *Polymer* 44, no. 12 (June 1, 2003): 3593–3605.
21. Lee, Lai Yeng, Sudhir Hulikal Ranganath, Yilong Fu, Jasmine Limin Zheng, How Sung Lee, Chi-Hwa Wang, and Kenneth A. Smith. "Paclitaxel Release from Micro-Porous PLGA Disks." *Chemical Engineering Science* 64, no. 21 (November 1, 2009): 4341–49.
22. Li, Y. M., G. Y. Xu, A. M. Chen, S. L. Yuan, and X. R. Cao. "Aggregation between Xanthan and Nonyphenyloxypropyl β -Hydroxyltrimethylammonium Bromide in Aqueous Solution: MesoDyn Simulation and Binding Isotherm Measurement." *The Journal of Physical Chemistry B* 109, no. 47 (December 1, 2005): 22290–95.
23. Li, Yi-ming, Gui-ying Xu, Dan Wu, and Wei-ping Sui. "The Aggregation Behavior between Anionic Carboxymethylchitosan and Cetyltrimethylammonium Bromide: MesoDyn Simulation and Experiments." *European Polymer Journal* 43, no. 6 (June 2007): 2690–98.
24. Makadia, Hirenkumar K., and Steven J. Siegel. "Poly Lactic-Co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier." *Polymers* 3, no. 3 (September 1, 2011): 1377–97.
25. Manach, Claudine, Christine Morand, Christian Demigné, Odile Texier, Françoise Régérat, and Christian Rémésy. 1997. "Bioavailability of Rutin and Quercetin in Rats." *FEBS Letters* 409 (1):12–16.
26. McNeely, W.H. and Kang, K.S. (1973) Xanthan and Some Other Biosynthetic Gums. In: Whistler, R.L. and BeMiller, J.N. Eds., 2nd Edition, *Industrial Gums*, Aca-Demic Press, New York, 473-497., n.d.

27. Otto, Daniel P., Anja Otto, and Melgardt M. de Villiers. "Experimental and Mesoscale Computational Dynamics Studies of the Relationship between Solubility and Release of Quercetin from PEG Solid Dispersions." *International Journal of Pharmaceutics* 456, no. 2 (November 18, 2013): 282–92.
28. Rothwell, J. A., A. J. Day, and M. R. A. Morgan. "Experimental Determination of Octanol-Water Partition Coefficients of Quercetin and Related Flavonoids." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, no. 11 (June 1, 2005): 4355–60.
29. Salwowska, Natalia M, Katarzyna A Bebenek, Dominika A Żądło, and Dominika L Wcisło-Dziadecka. "Physiochemical Properties and Application of Hyaluronic Acid: A Systematic Review." *Journal of Cosmetic Dermatology* 15, no. 4 (December 1, 2016): 520–26.
30. Sharma S, Ali A, Ali J, Sahni JK, Baboota S. "Rutin: therapeutic potential and recent advances in drug delivery". *Expert Opin Investig Drugs*. 2013;22:1063–1079
31. Tait and Sutherland. "Synthesis and Properties of a Mutant Type of Xanthan - TAIT - 1989 - *Journal of Applied Microbiology* - Wiley Online Library." Accessed November 6, 2017.
32. "Tetko, I. V.; Gasteiger, J.; Todeschini, R.; Mauri, A.; Livingstone, D.; Ertl, P.; Palyulin, V. A.; Radchenko, E. V.; Zefirov, N. S.; Makarenko, A. S.; Tanchuk, V. Y.; Prokopenko, V. V. *Virtual Computational Chemistry Laboratory - Design and Description*, J. Comput. Aid. Mol. Des., 2005, 19, 453-63," n.d.
33. Valentová, Kateřina, Jiří Vrba, Martina Bancířová, Jitka Ulrichová, and Vladimír Křen. "Isoquercitrin: Pharmacology, Toxicology, and Metabolism." *Food and C hemical Toxicology* 68, no. Supplement C (June 1, 2014): 267–82.
34. W Sutherland, I. "Xanthan Lyases - Novel Enzymes Found in Various Bacterial Species." *Journal of General Microbiology* 133 (December 1, 1987): 3129–34.
35. Xu, Yihan, Chang-Soo Kim, David M. Saylor, and Donghun Koo. "Polymer Degradation and Drug Delivery in PLGA-Based Drug-Polymer Applications: A Review of Experiments and Theories." *Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials* 105, no. 6 (August 2017): 1692–1716.
36. Xu, Yihan, Donghun Koo, Emily A. Gerstein, and Chang-Soo Kim. "Multi-Scale Modeling of Polymer-Drug Interactions and Their Impact on the Structural Evolutions in PLGA-Tetracycline Films." *Polymer* 84 (February 10, 2016): 121–31.
37. Zhou, Huimin, Haixing Xu, Xin Li, Yahui Lv, Tian Ma, Shiyong Guo, Zhijun Huang, Xiaobing Wang, and Peihu Xu. "Dual Targeting Hyaluronic Acid - RGD Mesoporous Silica Coated Gold Nanorods for Chemo-Photothermal Cancer Therapy." *Materials Science and Engineering: C* 81, no. Supplement C (December 1, 2017): 261–70.
38. Zhu, S N. "The Structure of Polymer Chain;," 1996, Science Publications: Beijing edition.

Résultats et discussion

Chapitre V

V. Etude de la solubilité des flavonoïdes dans différents solvants par une approche multi-échelle

Introduction

La solubilité des flavonoïdes dans différents solvants organiques a été largement étudiée expérimentalement. Les résultats obtenus ont souvent été corrélés à des paramètres identifiés par une approche de modélisation moléculaire. Dans ces simulations, le flavonoïde, représenté par une seule molécule, est entouré d'un certain nombre de molécules de solvants, ce qui permettra d'estimer une solubilité à l'équilibre. Les phénomènes se produisant lors des processus de dissolution, tels que l'agrégation des molécules, nécessitent l'utilisation d'autres méthodes de simulation. Il s'agit des outils de la méso-modélisation. Dans ce chapitre, une double approche expérimentale et de modélisation moléculaire/mésoscopique est utilisée afin d'expliquer les mécanismes d'interaction et d'agrégation/dispersion de trois flavonoïdes, la quercétine, la rutine et l'isoquercétine, dans différents solvants organiques. La modélisation à l'échelle moléculaire fournit les paramètres d'interactions entre les différents constituants du système. La DPD permet d'identifier les groupements impliqués dans le processus de dissolution des molécules. La méthode MesoDyn est aussi utilisée pour élucider les phénomènes d'agrégation et de séparation de phase au cours du temps.

A mesoscale modeling approach to study the dispersion and the solubility of flavonoids in organic solvents

Manel SLIMANE¹, Mohamed GHOUL¹ and Latifa CHEBIL^{1*}

¹Lorraine University – Laboratory Reactions and Process Engineering (LRGP)

2 avenue de la Forêt de Haye – TSA 40602 54518 VANDOEUVRE CEDEX FRANCE

E-mail : firstname.lastname@univ-lorraine.fr

*Corresponding author: latifa.chebil@univ-lorraine.fr

Abstract:

Flavonoids have been shown to acquire a wide range of biological activities including antiviral, anti-allergic, anti-inflammatory, anti-tumor properties. However, the efficiency of their formulation is directly linked to their capability of dispersion and their solubility in organic and aqueous media. In this study we carried out simulations at molecular and meso-scales (MesoDyn and DPD) in order to identify the main groups implicated in the solubility and the dispersion of flavonoids in several solvents. The results of simulation are compared here to experimental ones (kinetic of solubilization, microscopic observation). The obtained results showed that the Flory-Huggins interaction parameter can help to select the best solvents for flavonoids solubility. In the three studied flavonoids B2 part interact positively with *tert*-amyl alcohol, propanol and isopropanol (χ_{ij} near to 0.5). The $g(r)$ values of B2-*tert*-amyl alcohol bead pairs are higher and thinner than those of B2-acetonitrile which implies that the adjacent interactions between B2 and *tert*-amyl alcohol are stronger than those between B2 and acetonitrile. The order parameter of beads shows phase separation in the case of quercetin/ *tert*-amyl alcohol system. Indicating that quercetin aggregates in *tert*-amyl alcohol. Molecular and mesoscale modeling simulations corroborate experimental findings.

Keywords: Flavonoid, solubility, Flory Huggins parameter, DPD, MesoDyn

1. Introduction

Flavonoids are benzo- γ -pyrone derivatives widely distributed in plant kingdom (Arora et al., 1998; Pietta, 2000; Rice - Evans, 2001; Burda et al., 2001). They have been shown to acquire a wide range of biological activities including antiviral, anti-allergic, anti-inflammatory, anti-tumor properties (Di Carlo et al., 1999; Middleton et al., 2000). However, the efficiency of their extraction and the performance of the processes of their functionalization or formulation

are directly linked to their capability of dispersion and their solubility in organic and aqueous media.

In order to understand the mechanisms involved during the solubilization of flavonoids like quercetin, isoquercetin, rutin, naringenin and chrysin in different organic solvents we have lead recently an intensive experimental investigation (Chebil et al., 2007, Chebil et al., 2010, Chebil et al., 2013). The obtained data showed that the solubility of these flavonoids in acetone and *tert*-amyl alcohol, at 50°C, was in the range of 20 to 40 g/L compared to few g/L in water or in acetonitrile (Chebil et al., 2007). Moreover, in the case of quercetin, the experimental solubility kinetics, the microscopic observations and the particle size measurements revealed that an aggregation phenomenon is occurred when this compound was mixed in *tert*-amyl alcohol. Thus, the concentration of quercetin in this solvent becomes low and its availability in the medium was affected.

The high solubility of quercetin, isoquercetin and rutin in *tert*-amyl alcohol was explained, experimentally, by low values of enthalpies of dissolution and mixing (Chebil et al., 2013). Moreover, calculated free energies of solvation are consistent with the experimental solubility scale for quercetin (Chebil et al., 2010). To complete the experimental observation, molecular modeling simulation was used. This approach indicated that the high solubility of quercetin in *tert*-amyl alcohol and acetone, compared to that in water and acetonitrile, was due to more pronounced hydrophobic and hydrophilic interactions. However molecular modeling was not able to explain the observed aggregation phenomena. Mesoscopic simulations seemed more appropriate to study this behavior. In fact, several works reported the use of mesoscopic simulations in addition to molecular simulations to explain aggregation and solubilization of drugs in presence of polymeric matrices and in water (Otto et al., 2003; Dai et al., 2012).

Mesoscopic dynamics (MesoDyn) and dissipative particle dynamics (DPD) are two common methods of mesoscopic simulation. Both methods coarse-grain the familiar atomistic representation of the molecule to gain orders of magnitude in both length and time scale relative to traditional atomistic scale simulation (Coveney, 2003). DPD can accurately capture the hydrodynamic behavior of fluids and the underlying interactions of the species. It can also directly present the movement of mesomolecules, which MesoDyn simulation cannot do (Dai et al., 2012).

In the case of flavonoids, the mesoscale modeling (dissipative particle dynamics and MesoDyn) was only used to investigate the encapsulation of quercetin in polyethylene glycol

(PEG) (Otto et al. (Otto et al., 2013)). These authors showed that computational modeling is a valuable tool to study and expand experimental evaluation and design of solid dispersion dosage forms illustrated by the phase separation.

In this study, we carried out simulations at molecular and meso-scales (MesoDyn and DPD) in order to identify the main groups implicated in the solubility and the dispersion of flavonoids in several solvents. The results of simulation are compared here to experimental ones (kinetic of solubilization, microscopic observation). Specifically, the aggregation of quercetin in *tert*-amyl alcohol was studied in depth.

2. Materials sans methods

2.1. Materials

Quercetin hydrate ($\geq 98\%$) and rutin hydrate ($\geq 95\%$) were purchased from Sigma. Isoquercitrin ($\geq 95\%$) was purchased from Extrasynthese. *tert*-amyl alcohol ($\geq 99\%$), propanol ($\geq 99\%$), isopropanol ($\geq 99\%$), benzonitrile ($\geq 99\%$), acrylonitrile ($\geq 99\%$) and acetonitrile ($\geq 99.9\%$) were purchased from Sigma-Aldrich. Molecular sieves (4 Å) were from Grace Davison. Nylon syringe filters (13-mm diameter, 0.22- μm pore size) were from Whatman Co. Dissolution rate experiments were performed in a 27-mL jacketed reactor (Chemspeed ASW 1000).

2.2. Dissolution experiments and analysis

Before each experiment, solvent (15 mL) was dried with 4-Å molecular sieves during 24 h at 50 °C and then transferred to the flavonoid (0.75 g). The solution was stirred at 50 °C under 500 rpm, using a Chemspeed vibration system, until equilibrium was reached. Samples (0.2 mL) were withdrawn with a syringe and filtered through 0.22 μm nylon filters (prewarmed at 50 °C). The filtrate (0.5 or 1 mL) was collected in a vial, and immediately analyzed by HPLC. Measurement of water content in all mixtures was performed using the Karl Fischer titration method. In all these measurements, the water content was about 0.15% (m/m). Dissolved flavonoids were analyzed by HPLC using LaChrom HPLC system (Merck) with UV detector (Merck) at 254 nm and with an Apollo C18 column (250 \times 4.6 mm, Alltech). The eluent used was methanol. The elution flow rate was 1 mL/min. The volume of the injection sample was 10 μL . Elution was performed at 55 °C.

2.3. Transmission Electron Microscopy (TEM) and Scanning Electron Microscopy (SEM)

Samples were withdrawn at different times from dissolution experiments and examined with a Philips CM-200 transmission electron microscope. The same samples were examined using a Hitachi SEM S2500 instrument operating at 10 kV.

2.4. Computational modeling

All computational modeling was performed using the Materials Studio 7.0[®] suite of software (Accelrys Software Inc., San Diego, USA).

2.4.1. Dissipative particle dynamics simulations

The different systems composed by flavonoids (quercetin “Q”, rutin “R” and isoquercetrin “I”) in presence of solvents (acetonitrile “AC”, *tert*-amyl alcohol “MB”, propanol “PL”, isopropanol “ISPL”, Benzonitrile “BZN” and Acrylonitrile “ACRL”) were represented as a coarse grained models. The choice of the beads distribution was based on the functional groups of flavonoids. Solvents, being small molecules, were represented by one bead each (Figure V.1)

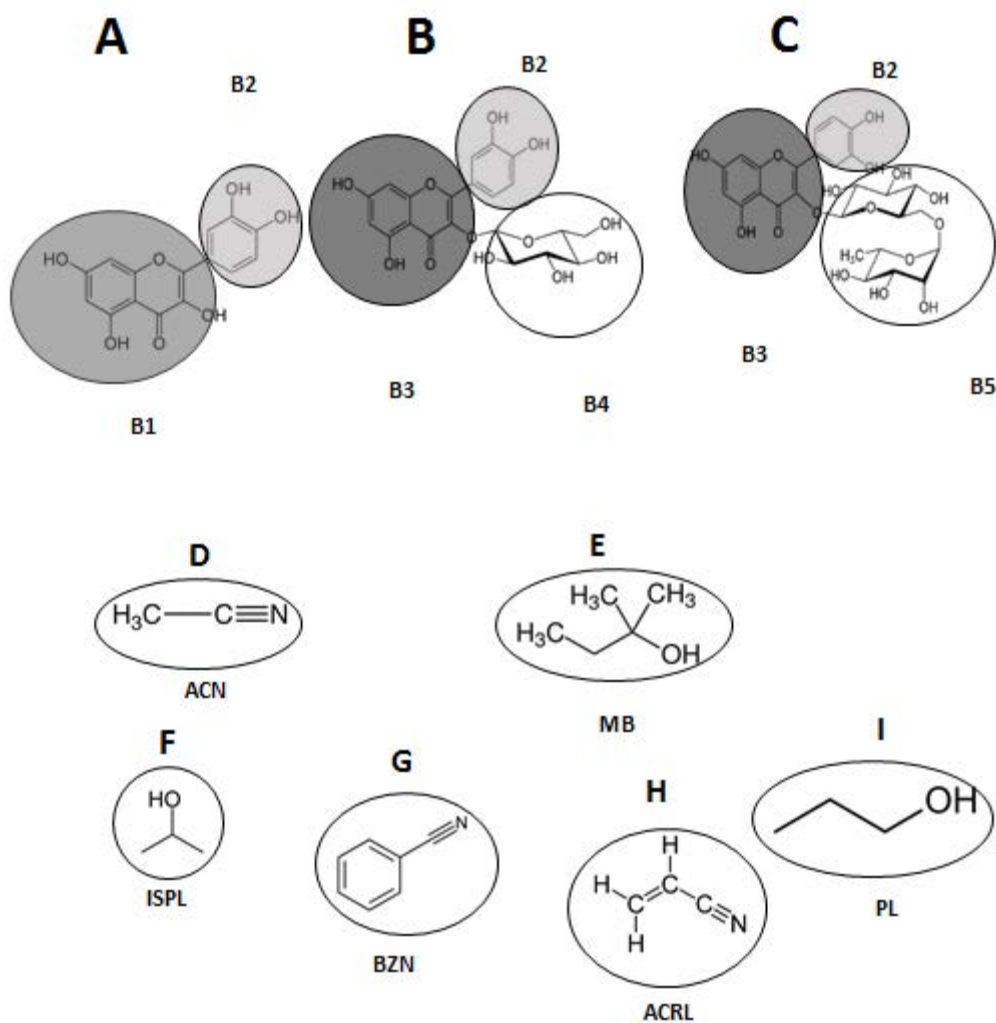


Figure V.1 : Coarse-grained models of (A) bead model of quercetin for which beads B1 and B2 were defined to constitute a single quercetin molecule (B) bead model of isoquercetin for which beads B3, B2 and B4 were defined to constitute a single isoquercetrin molecule (C) bead model of rutin for which beads B3, B2 and B5 were defined to constitute a single rutin molecule (D) assignment of a single bead I to represent acetonitrile (E) assignment of a single bead MB to represent tert-amyl alcohol (F) assignment of a single bead ISPL to represent isopropanol (G) assignment of a single bead BZN to represent benzonitrile (H) assignment of a single bead ACRL to represent acrylonitrile (I) assignment of a single bead PL to represent propan-1-ol

- **The DPD theory**

Dissipative Particle Dynamics simulation DPD is a simulation method introduced by Hoogerbrugge and Koelman in 1992 (Hoogerbrugge and Koelman, 1992). It is derived from molecular dynamics simulations and lattice gas automata. It has the advantage of increasing the mesoscopic length and time for complex fluid simulations. A bead represents a small region of fluid matter and its motion is assumed to be governed by Newton's laws. The evolution of the positions and impulses of all interacting beads over time is governed by Newton's second law, as given in equation V.1

$$\frac{\partial \mathbf{r}_i}{\partial t} = \mathbf{v}_i; \quad \frac{\partial \mathbf{v}_i}{\partial t} = \frac{\mathbf{f}_i}{m_i} \quad (\text{V.1})$$

where \mathbf{r}_i , \mathbf{v}_i and m_i denote the position vector, velocity, and mass of bead, respectively. \mathbf{f}_i represents the total force exerted on bead i . For simplicity of presentation, the masses of all beads are set as 1 DPD unit. The total force exerted on bead during a movement interval is described by equation V.2

$$\mathbf{f}_i = \sum_{i \neq j} (\mathbf{F}_{ij}^C + \mathbf{F}_{ij}^D + \mathbf{F}_{ij}^R) \quad (\text{V.2})$$

where the total force \mathbf{f}_i is summed for two bordering beads i and j within a cutoff distance. \mathbf{F}_{ij}^C is the conservative force and linear in the bead – bead separation; \mathbf{F}_{ij}^D is the dissipative force and proportional to the relative velocities of bead i and its adjacent bead j ; \mathbf{F}_{ij}^R is the random force between bead i and bead j . All forces are short-range with a fixed cutoff radius (equation V.3) (a value beyond which repulsion is not summed) of 7 Å which corresponds to a DPD reduced dimensionless value of 1 and set as the length scale of the system.

$$r_c = (\bar{\rho} V_b)^{1/3} \quad (\text{V.3})$$

With $\bar{\rho} = 3$: the number of beads in the cell in case of a fluid and V_b a constant volume for all beads calculated via the Connolly method (Connolly, 1983) and corresponds to 125 amu (atomic mass units).

- **DPD repulsion parameter calculation**

The repulsion parameter a_{ij} between two beads i and j is based on the Flory Huggins parameter χ_{ij} as related by Groot and Warren (Groot and Warren, 1997).

$$a_{ij} = a_{ii} + 3.27 \chi_{ij} \quad (\text{V.4})$$

with a_{ii} is the repulsion parameter of two beads from the same type and $a_{ii} = 75 K_B * T / \rho$ (eq 5). $K_B * T$ is the conservative interaction potential. It corresponds to the Boltzmann constant and the absolute temperature, this term is reduced to 1 (DPD reduced units) by convention (Hoogerbrugge and Koelman, 1992). $\rho = 3$ and corresponds to the compressibility of a pure fluid. For the rest of calculations, we will take $a_{ii} = 25$.

To determine the interaction parameter χ_{ij} between two beads i and j , and after trying the solubility method, we have choose the mixing energy dependent method to achieve our study.

The χ_{ij} values were determined from the mixing energy values via the Blend module in Materials Studio 7.0 according to eq 5 (Flory, 1953)

$$\chi_{ij} = E_{\text{mix}} / RT \quad (\text{V.5})$$

With E_{mix} is the difference in free energy due to interaction between pure component pairs i-i and j-j compared to the mixed states of mixed pairs. R is the universal gas constant and T is the absolute temperature.

The mixing energy can be given by eq 6

$$E_{\text{mix}} = \frac{1}{2} Z (E_{ij} + E_{ji} - E_{ii} - E_{jj}) \quad (\text{V.6})$$

With Z the coordination number which describes the site occupied by a component in the lattice, and $E_{ij} + E_{ji} - E_{ii} - E_{jj}$ are binding energies between paired components and are the average of an ensemble of molecular configurations of the components. 500 000 atomistic-level Monte Carlo configurations ($Z = 500\ 000$) at 323 K were generated by rotating the Van der Waals surfaces of the different pairs of beads i and j via the Blends module.

- ***Simulation conditions in DPD***

Different simulation boxes were constructed to contain a unique flavonoid and a unique solvent for each manipulation. The composition reproduces the experimental conditions, specifically 50 g / L as a concentration which reflects 5% of flavonoid and 95% of the solvent in each box. The dimensions of the periodic simulation boxes were $30 * 30 * 30 r_c$ which corresponds to $210 \text{ \AA} * 210 \text{ \AA} * 210 \text{ \AA}$ in physical dimensions. The stabilization and the energetic equilibration of the boxes were done via geometry optimization in the Mesocite module at 0.1 GPa with a maximum tolerances at $7.5 * 10^{-6}$ for energy and $7.5 * 10^{-5}$ for force respectively. Optimization was finished when no more dimensional changes were observed. 1 million simulation steps were performed at 323 K with a time step of 0.05 (250 fs in physical units). Total calculation time is 250 μ s. a_{ij} repulsion parameters were calculated from eq 4 based on the χ_{ij} parameters obtained by Blends.

2.4.2. MesoDyn simulations

- ***MesoDyn theory***

The MesoDyn method is based on the time-dependent mean-field density functional theory. It is based on the idea that the free energy F of an inhomogeneous liquid is a function of the local density function ρ . From the free energy, all thermodynamic functions can be derived. The model used in the MesoDyn project consists of beads of various types i, j ... with interactions described by harmonic oscillator potentials for the intramolecular interactions (Gaussian chain) and a mean field potential for all other interactions. Each bead is of a certain

component type representing covalently bonded groups of atoms such as those given by one or a few structural units of a polymer chain. The dynamics of the system are described by a set of functional Langevin equations (equation V.7). They represent diffusion equations in the component densities, which take account of the noise in the system.

$$\begin{aligned}\frac{\partial \rho_i}{\partial t} &= M v_j \nabla \rho_i \rho_j \nabla [\mu_i - \mu_j] + \eta \\ \frac{\partial \rho_j}{\partial t} &= M v_j \nabla \rho_i \rho_j \nabla [\mu_j - \mu_i] + \eta\end{aligned}\quad (\text{V.7})$$

With M the mobility of the bead, $M v_j \rho_i \rho_j$ the kinetic coefficient, η the blank Gaussian noise and μ the diffusion coefficient. The integration of those equations will generate a set of density fields according to the Boltzmann distribution. So, MesoDyn describes the free energy of heterogeneous system that would result in phase separation as a function of the local density of that component over time (Fraaije et al., 1997; Maurits and Fraaije, 1997; Otto et al., 2013).

- ***MesoDyn simulation parameters***

As for DPD, every simulation box represents a flavonoid in a solvent. The dimensions was 32 nm * 32 nm * 32 nm with a bond length to box length ratio of 1.1543, a diffusion coefficient of beads of 10^{-7} cm²/s, 1 million calculation steps and a time step of 50 ns at 323 K. Noise scalling parameter and compressibility values were kept at the default values of 75.002 and 10 respectively. The repulsion parameters used in the mean-field were calculated from equation V.8 at 323 K.

$$\lambda_{ij} \text{ (kJ/mol)} = \chi_{ij} RT \quad (\text{V.8})$$

χ_{ij} is the interaction parameter, R the universal gas constant and T the absolute temperature.

3. Results and discussion

3.1. Identification of interactions between flavonoids and solvents using Flory-Huggins interaction parameter determination

Using the Flory-Huggins interaction parameter, it is possible to know the ability of the flavonoid or a part of the flavonoid (bead) to engage in hydrogen-bonding interactions with solvent.

Flory-Huggins interaction parameter calculations started from the determination of the binding energy between the two molecules and the coordination number (equation V.6). The binding energy is a measure of the energy of the interaction between two molecules, and the

coordination number is the maximum number of screen molecules packed around a single base molecule within a set volume (normally the van der Waals surface was used to describe the shape of each molecule). During the binding energy distribution and coordination number calculations, the base molecule was kept fixed and the screen molecule was randomly translated and rotated (via Monte Carlo simulation) in order to obtain a large number pair configurations with a wide range of binding energies and energy distributions. From the binding energies and coordination numbers, the energy of mixing can be calculated from equation V. 6 and the temperature dependent Flory-Huggins interaction parameter (χ_{ij}) from equation V.5. Many authors have deduced the solubility behavior of biomolecules or polymers from this parameter. When $\chi_{ij} \geq 0.5$, dissolution is favorable (Guo et al., 2010). In one hand, negative values of χ_{ij} indicate that two different molecules have more affinity between themselves than with molecules of the same nature. On the other hand, largely positive values of χ_{ij} indicate that the molecules prefer to interact with themselves than with the other molecules. Ambiguities can take place within the limit of molecules affinity depending of χ_{ij} values (Pajula and Al, 2010). The Flory-Huggins interaction parameters of flavonoid (quercetin (B1 and B2), isoquercitrin (B2, B3 and B4) and rutin (B2, B3 and B5)) and solvents (acetonitrile (ACN), *tert*-amyl alcohol (MB), propanol (PL), isopropanol (ISPL), benzonitrile (BZN), acrylonitrile (ACRL)) were determined and listed in Table V.1.

Table V.1: Flory-Huggins interaction parameters of flavonoid (quercetin (B1 and B2), isoquercitrin (B2, B3 and B4) and rutin (B2, B3 and B5)) and solvents (acetonitrile (ACN), *tert*-amyl alcohol (MB), propanol (PL), isopropanol (ISPL), benzonitrile (BZN), acrylonitrile (ACRL))

Bead	B1	B2	B3	B4	B5	ACN	MB	PL	ISPL	BZN	ACRL
B1	0										
B2	7.19	0									
B3	*	5.17	0								
B4	*	0.16	9.44	0							
B5	*	-2.56	3.99	*	0						
ACN	13.15	-3.55	8.16	-0.36	2.73	0					
MB	16.10	0.67	11.10	1.24	3.23	*	0				
PL	16.69	0.32	11.81	1.04	3.60	*	*	0			
ISPL	17.05	0.72	12.33	1.03	3.65	*	*	*	0		
BZN	4.32	-4.87	2.70	-0.43	0.63	*	*	*	*	0	
ACRL	11.80	-3.34	7.26	-0.12	2.14	*	*	*	*	*	0

* Interactions not studied in this work.

The values obtained for flavonoids can be related to the ability of the excipient to engage in hydrogen-bonding interactions with solvent. B2 is the same for the studied flavonoids. It has shown favorable interactions with MB and ISPL due to a χ_{ij} values near to 0.5. However, B1, B3, B4 and B5 have less interactions with solvents. These results suggest that B2 part is responsible for the high solubility of quercetin, isoquercitrin and rutin in MB and ISPL. These results are in accordance with those obtained in a previous work suggesting that, in the case of quercetin, a more effective solvent would share the hydrophilic and hydrophobic moieties of *tert*-amyl-alcohol and acetone, respectively such as isopropanol (Chebil et al., 2010).

In order to confirm these results, χ_{ij} was calculated and experimental solubility was measured for quercetin, isoquercitrin and rutin in PL, BZN and ACRL. Effectively, for PL/B2 system, χ_{ij} is near to 0.5 and the solubility of quercetin, isoquercitrin and rutin is high in this solvent. However, for BZN/B2 and ACRL/B2 systems, χ_{ij} is very negative and the solubility of quercetin, isoquercitrin and rutin is low in this solvent (Table V.2).

Table V.2: Solubilities of quercetin, isoquercitrin and rutin in *tert*-amyl alcohol (MB), acetonitrile (ACN), propanol (PL), isopropanol (ISPL), benzonitrate (BZN) and acrylonitrile (ACRL)

S(g/L)	MB	ACN	BZN	ACRL	PL
Quercetin	20±0.4	1.7±0.006	1.22±0.02	0.33±0.01	25.77±0.6
Isoquercetin	30±0.9	-	0.11±0.002	0.077±0.0002	29.48±0.9
Rutin	36±0.4	0.3±0.006	0.19±0.002	0.14±0.001	31.76±0.8

Two groups of solvents can be identified for the solubility of flavonoids in organic media: good solvents like MB, PL, ISPL and poor solvents like ACN, BZN, and ACRL.

The χ_{ij} is an interesting parameter to appreciate the solubility of flavonoids in organic media and to identify the main groups implicated in the solubility.

3.2. Study of the beads miscibility by DPD simulations

In order to evaluate the miscibility of the different parts of flavonoids in ACN and MB, DPD simulations were carried out.

a_{ij} repulsion parameters, calculated from equation V.4 based on the χ_{ij} parameters, were presented in Table V.3.

Table V.3 : a_{ij} repulsion parameters. Quercetin (B1 and B2), isoquercitrin (B2, B3 and B4), rutin (B2, B3 and B5), acetonitrile (ACN) and *tert*-amyl alcohol (MB)

Bead	B1	B2	B3	B4	B5	ACN	MB
B1	25						
B2	48.51	25					
B3	*	41.90	25				
B4	*	25.52	55.86	25			
B5	*	16.62	38.04	*	25		
ACN	68.00	13.39	51.68	23.82	33.92	25	
MB	77.64	27.19	61.29	29.05	35.56	*	25

* Interactions not studied in this work.

The interactions between the different parts of flavonoids and solvents were tested with DPD simulations. From these simulations the radial distribution function can be calculated via equation V.9 in a DPD analytical tool (Luo et al., 2012).

$$g_{ij}(r) = \frac{\langle \Delta N_{ij}(r \rightarrow r + \Delta r) \rangle V}{4\pi r^2 \Delta r N_i N_j} \quad (\text{V.9})$$

where $g_{ij}(r)$ is the radial distribution function (RDF) that gives the probability of finding bead i packed in a shell around bead j . $\Delta N_{ij}(r \rightarrow r + \Delta r) V$ is the trajectory averaged number of i around j within the shell distance $r \rightarrow r + \Delta r$, V is the system volume, N_i and N_j are the number of beads of i and j respectively.

RDFs of the inter-molecular bead pairs of flavonoids (quercetin (B1 and B2), isoquercitrin (B2, B3 and B4) and rutin (B2, B3 and B5)) and solvents (acetonitrile (ACN), *tert*-amyl alcohol (MB)) were showed in Figure V.2, V.3 and V.4.

The inter-molecular distribution functions have been used to ascertain the degree of miscibility of component blends. Some researchers have proposed that, when heterocontacts between the two components in a blend reach higher $g(r)$ values than contacts between the same component, miscibility occurs, whereas when this is not the case, the system phase separates (Luo and Jiang, 2010; Abou-Rachid et al., 2008; Yang et al., 2014; Wu et al., 2017). Analysis of RDFs, showed in Figure V.2, V.3 and V.4, revealed a distinct peak at 5-6 Å. For quercetin (Figure V.2), the peak maxima of B1-MB and B2-MB is lower than that found for the pure components (B1-B1 and B2-B2) which indicates that B1-MB and B2-MB bead pairs

are immiscible unlike B1-ACN and B2-ACN beads pairs which are miscible. In fact, the peak maxima agreed closely with the peak maxima found for the pure components which indicate that the different components were able to perturb the binding interactions of the pure components to allow inter-pair interaction or mixing interaction. Concerning isoquercitrin, B2-ACN, B2-MB, B3-ACN, B4-ACN bead pairs are miscible and B3-MB, B4-MB bead pairs are immiscible (Figure V.3). For rutin, B2-ACN, B5-ACN bead pairs are miscible and B2-MB, B3-ACN, B3-M3, B5-MB bead pairs are immiscible (Figure V.4).

Interestingly, for the three flavonoids, the $g(r)$ values of B2-MB bead pairs are higher and thinner than those of B2-ACN which implies that the adjacent interactions between B2 and MB are stronger than those between B2 and ACN. These results are in accordance with those observed previously indicating that B2 have a favorable interaction with MB which can explain the high solubility of quercetin, isoquercetin and rutin in MB than in ACN.

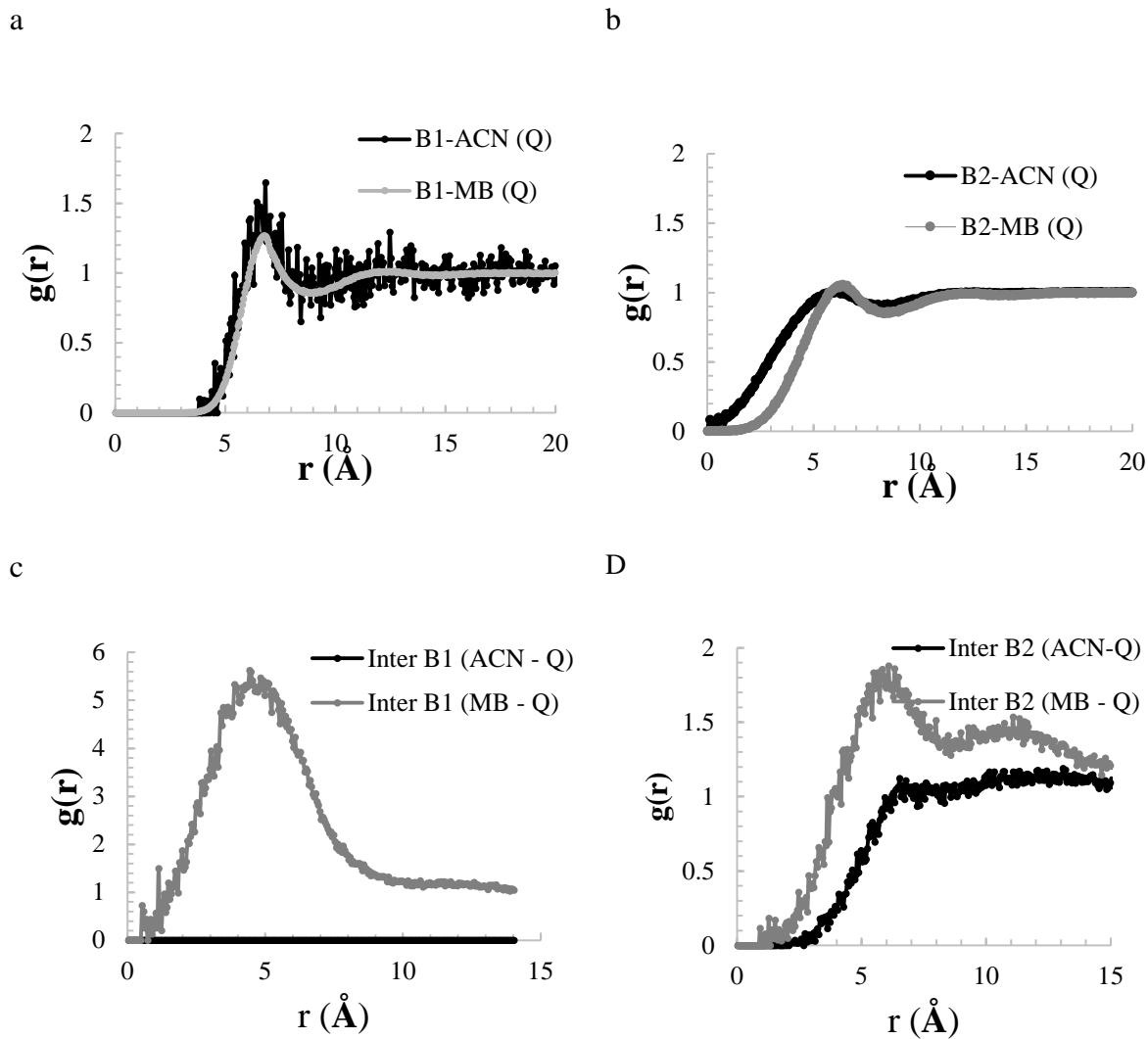


Figure V.2 : Radial distribution functions of interbead interaction a) B1-ACN and B1-MB bead pairs b) B2-ACN and B2-MB bead pairs, c) B1-B1 bead pairs and d) B2-B2 bead pairs for Q-ACN and Q-MB systems

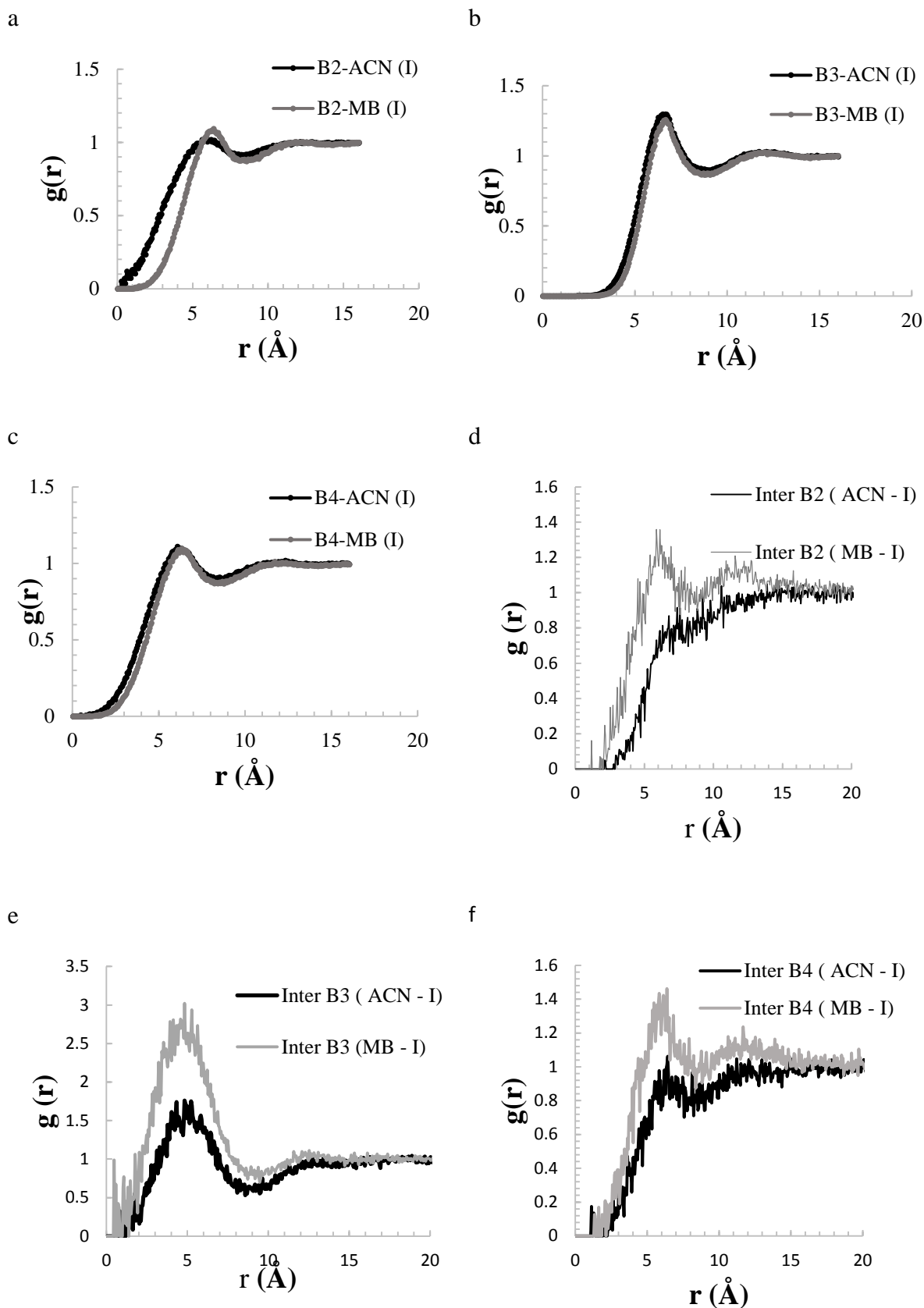


Figure V.3 : Radial distribution functions of interbead interaction a) B2-ACN, B2-MB bead pairs for I-ACN and I-MB systems, b) B3-ACN and B3-MB bead pairs for I-ACN and I-MB systems, c) B4-ACN and B4-MB bead pairs for I-ACN and I-MB systems, d) B2-B2 bead pairs for I-ACN and I-MB systems, e) B3-B3 bead pairs for I-ACN and I-MB systems and f) B4-B4 bead pairs for I-ACN and I-MB systems

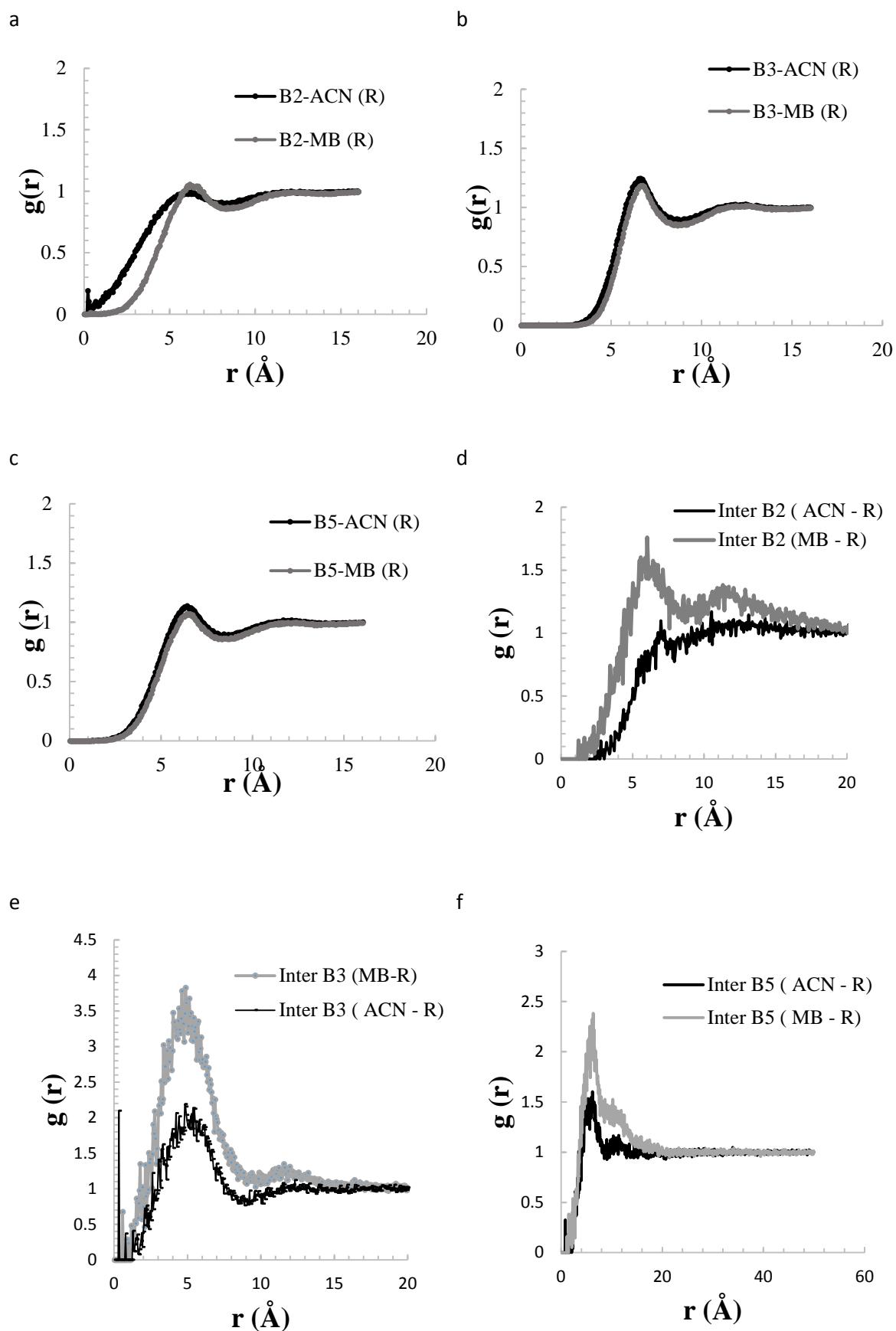


Figure V.4 : Radial distribution functions of interbead interaction a) B2-ACN, B2-MB bead pairs for R-ACN and R-MB systems, b) B3-ACN and B3-MB bead pairs for R-ACN and R-MB systems, c) B5-ACN and B5-MB bead pairs for R-ACN and R-MB systems, d) B2-B2 bead pairs for R-ACN and R-MB systems, e) B3-B3 bead pairs for R-ACN and R-MB systems and f) B5-B5 bead pairs for R-ACN and R-MB systems

3.3. Study of phase separation by Mesodyn simulations

The phase separation of different beads can be described by the average order parameter, P , of the specified component. The order parameter is an important parameter to understand the miscibility/immiscibility aspects of blends. Order parameters with large values indicate strong phase segregation, conversely, very small values indicate blend miscibility (Fraaije et al., 1997). So, we used this parameter in order to study different systems: quercetin/acetonitrile, quercetin/*tert*-amyl alcohol, isoquercitrin/acetonitrile, isoquercitrin/*tert*-amyl alcohol, rutin/acetonitrile and rutin/*tert*-amyl alcohol.

λ_{ij} repulsion parameters were calculated using χ_{ij} . Results are shown in Table V.4.

Table V.4 : λ_{ij} via E_{mix} -dependent method at 323 K (kJ/mol). Quercetin (B1 and B2), acetonitrile (ACN) and *tert*-amyl alcohol (MB)

Bead	B1	B2	ACN	MB
B1	0			
B2	19.30	0		
ACN	35.31	-9.53	0	
MB	43.23	1.79	*	0

* Interactions not studied in this work.

The time evolutions of order parameters and the corresponding mesostructures of quercetin, isoquercitrin and rutin in acetonitrile and *tert*-amyl alcohol are reported in Figures V.5, V.6, V.7, and V.8.

Equation V.9 is used to calculate the order parameter:

$$P_i = \frac{1}{V} \int_V [\eta_i^2(r) - \eta_i^2] dr \quad (\text{V.9})$$

where P is the time-dependent order parameter of a component, V is the cell volume, $\eta_i^2(r)$ and η_i^2 is the local density distributions of a component within the sampling distance r and the average system density distribution of the component beads, respectively P describes the deviation of local bead distribution from the average distribution if it were assumed to be homogeneous. An increase in P was illustrated in model systems in this report and implies that phase separation (or an increase in local bead order) took place and therefore one can observe the different continuances of P for each component over time (Otto et al., 2013; Mu et al., 2013).

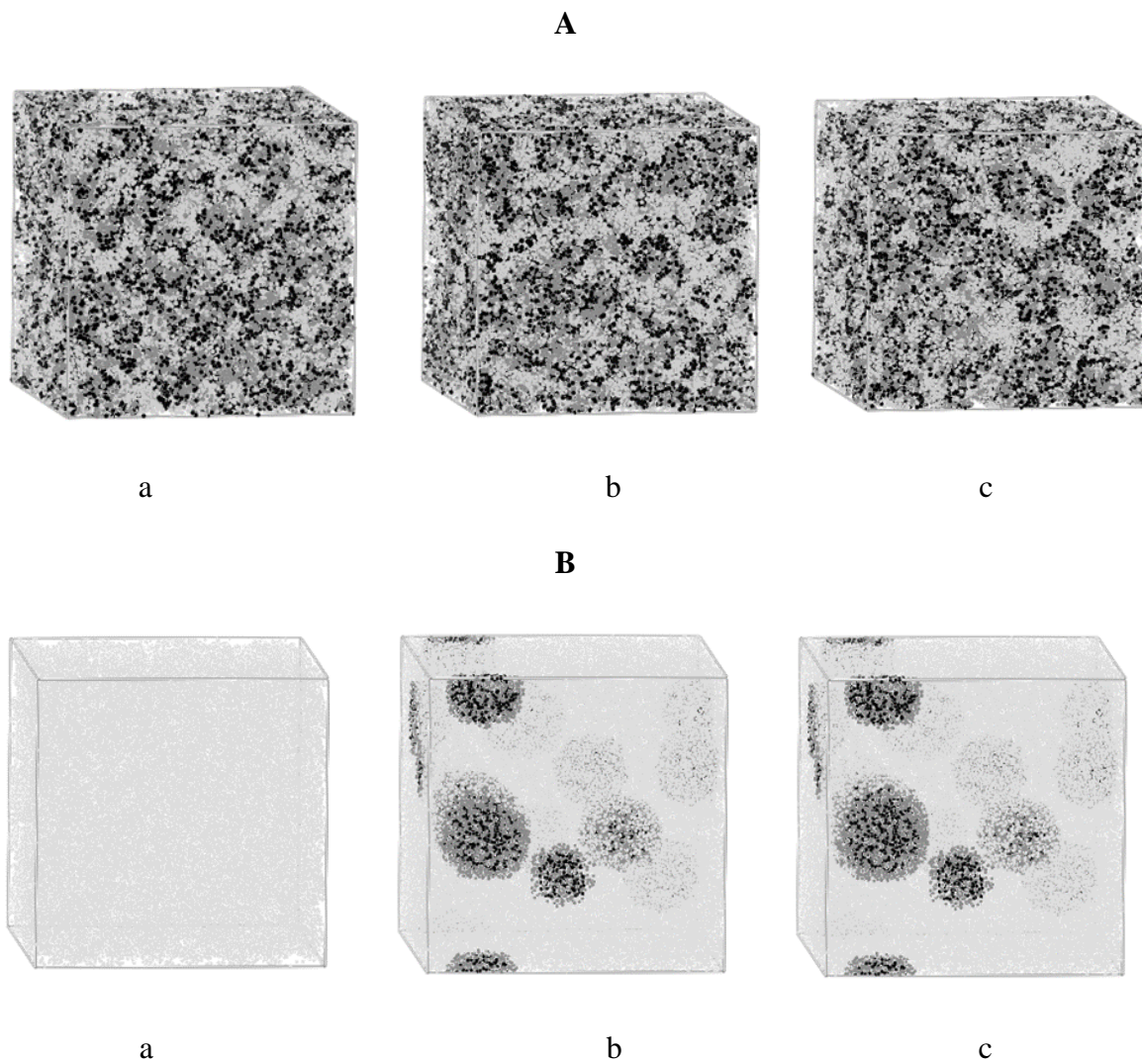


Figure V.5 : Snapshots of solubilization process of quercetin (B1, B2) in acetonitrile (ACN) (A) and in *tert*-amyl alcohol (MB) (B) (50 g/L) at (a) 1 step, (b) 500 000 steps and (c) 1 000 000 steps. B1 beads are in black, B2 beads are in dark gray and MB in light gray

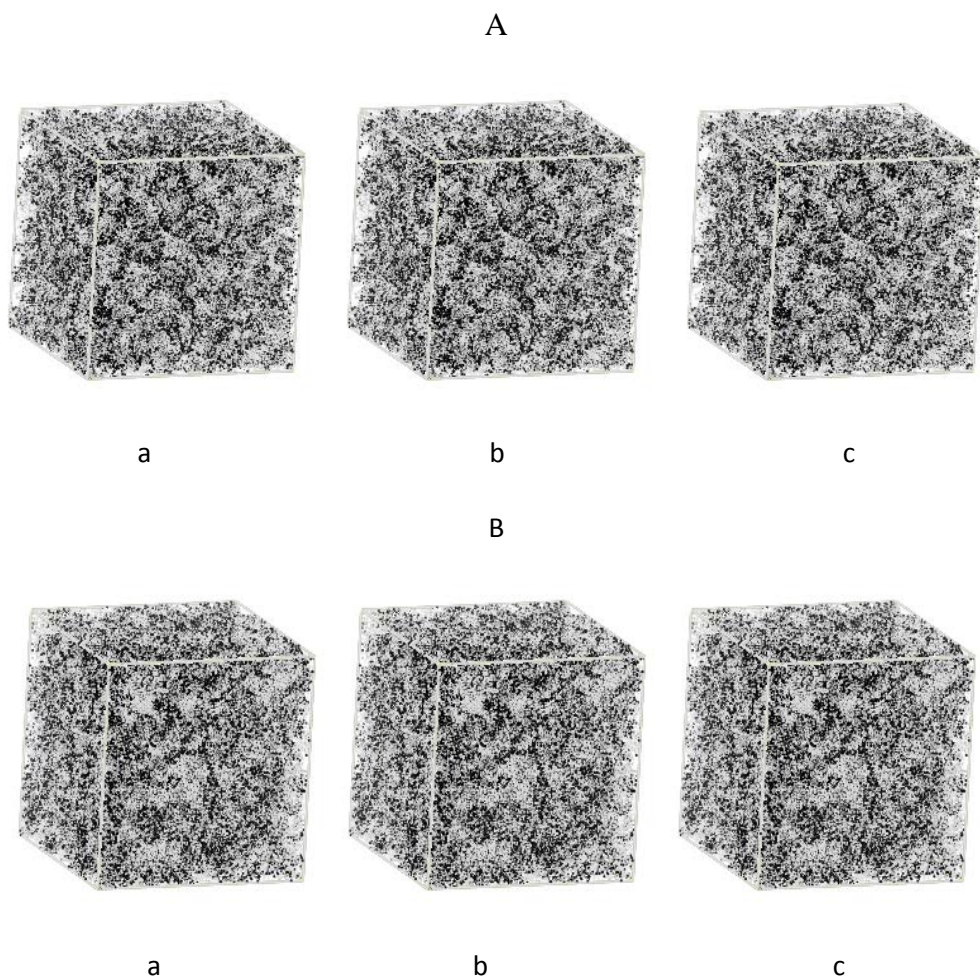


Figure V.6 : Snapshots of solubilization process of isoquercitrin (B2, B3, B4) in acetonitrile (ACN) (A) and in *tert*-amyl alcohol (MB) (B) (50 g/L) at (a) 1 step, (b) 500 000 steps and (c) 1 000 000 steps. B2 beads are in black, B3 beads are in dark gray, B4 and MB in light gray

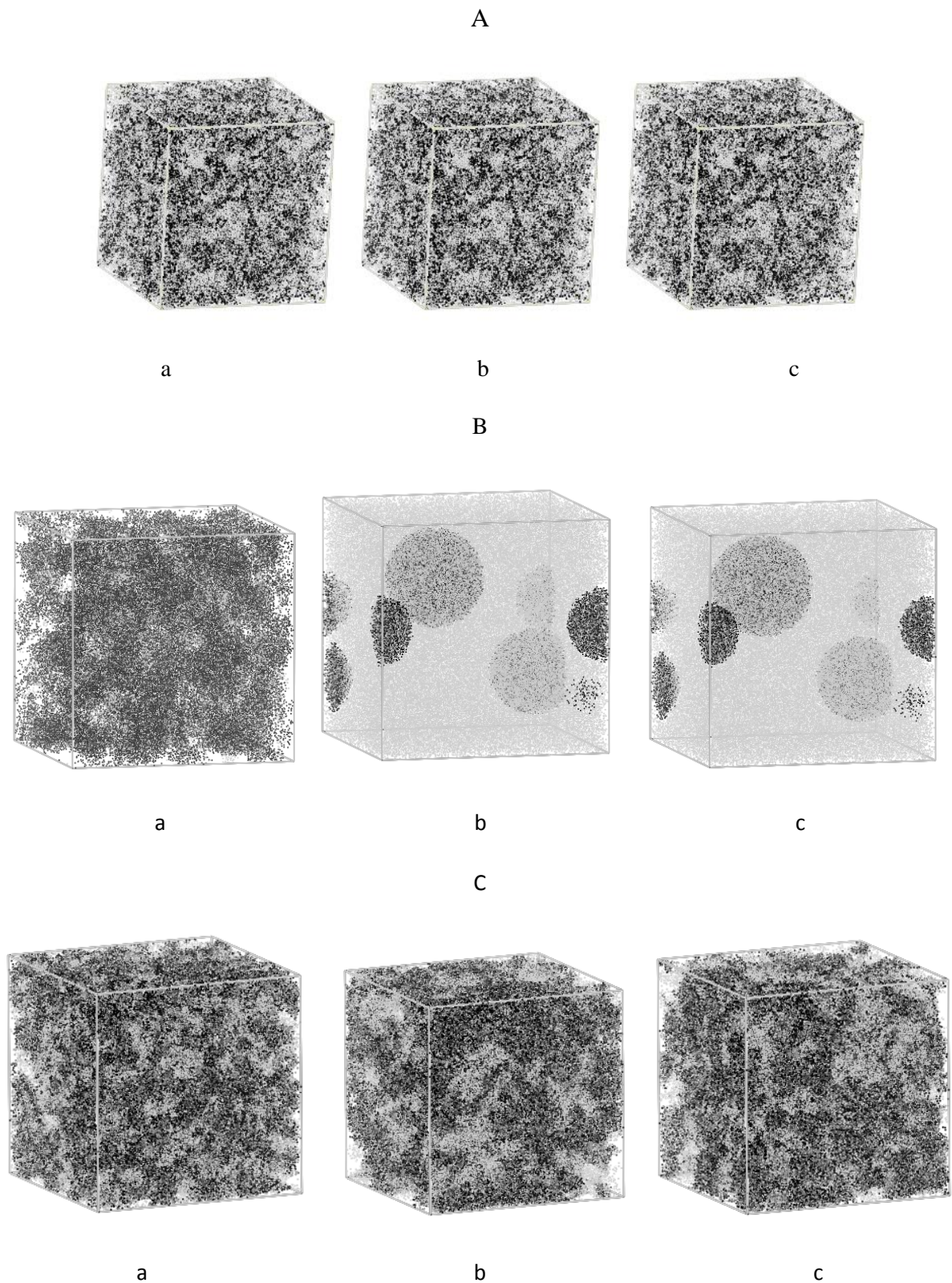
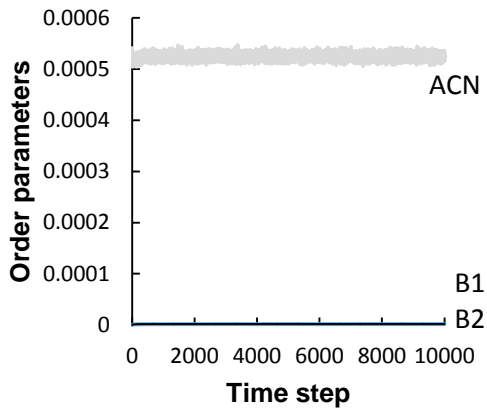
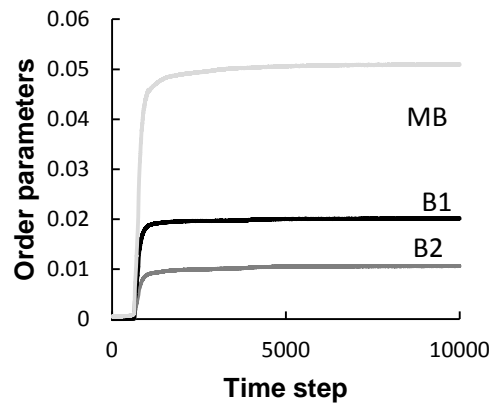


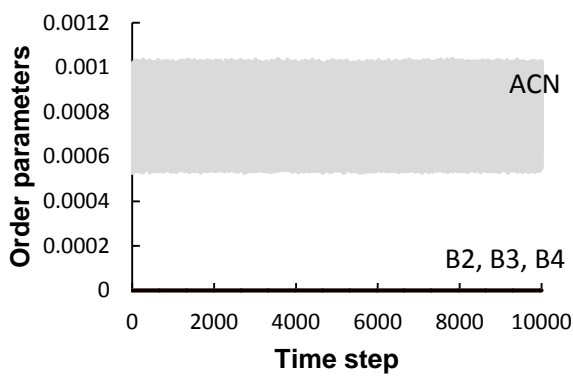
Figure V.7 : Snapshots of solubilization process of rutin (B2, B3, B5) in acetonitrile (ACN) (A) and in *tert*-amyl alcohol (MB) (50 g/L, B and 30 g/L C) at (a) 1 step, (b) 500 000 steps and (c) 1 000 000 steps. B2 beads are in black, B3 beads are in dark gray, B5 and MB in light gray



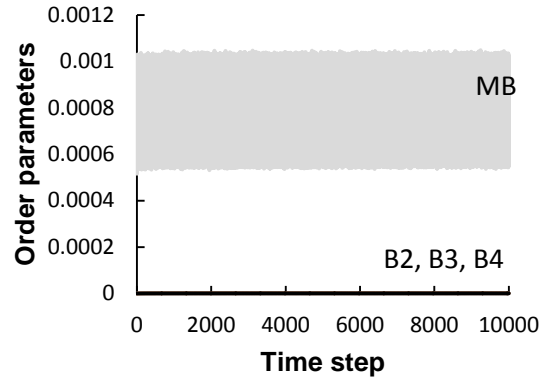
A



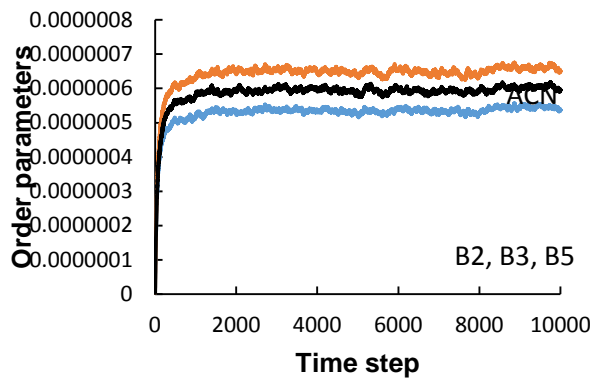
B



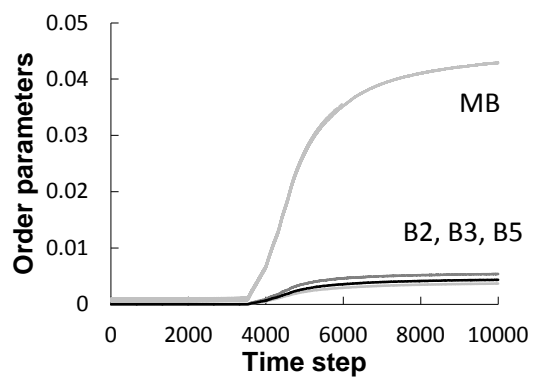
C



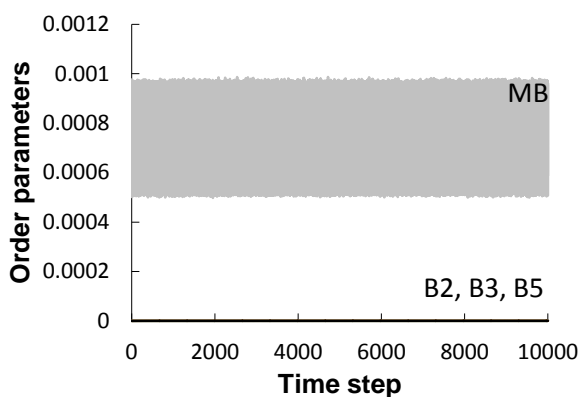
D



E



F



G

Figure V.8 : Order parameter plots with time evolution for all beads (A) in quercetin / acetonitrile system, (B) in quercetin / *tert*-amyl alcohol system, (C) isoquercitrin/acetonitrile system, (D) isoquercitrin/ *tert*-amyl alcohol system, (E) rutin /acetonitrile system, (F) rutin / *tert*-amyl alcohol system (50 g/L) and (G) rutin / *tert*-amyl alcohol system (30 g/L)

For quercetin, Figures V.5 and V.8 showed clearly that phase separation occurs in the case of quercetin/ *tert*-amyl alcohol system (P values of solvent ≈ 0.05) and not in the case of quercetin/acetonitrile system (P values of solvent ≈ 0.0005) indicating the immiscibility of quercetin in *tert*-amyl alcohol and the miscibility of quercetin in acetonitrile. These results are in accordance with those obtained experimentally (Figure V.9). In fact, high concentrations of dissolved quercetin in *tert*-amyl alcohol (50 g/L) were measured at the beginning of the experiment. The maximum concentration was followed by a decrease later on in time until the saturation concentration (20 g/L) was obtained. However, in acetonitrile a common dissolution profile was observed: quercetin concentrations rise to reach a plateau at 1.7 g/L. The mesoscopic morphology simulation result is quite similar to the transmission electronic microscopy and the scanning electron microscopy (SEM) measurements reported in Figure 10. It can be seen from Figure 10 that quercetin particles aggregates only in *tert*-amyl alcohol. This validates the results obtained from atomistic and mesoscopic simulations.

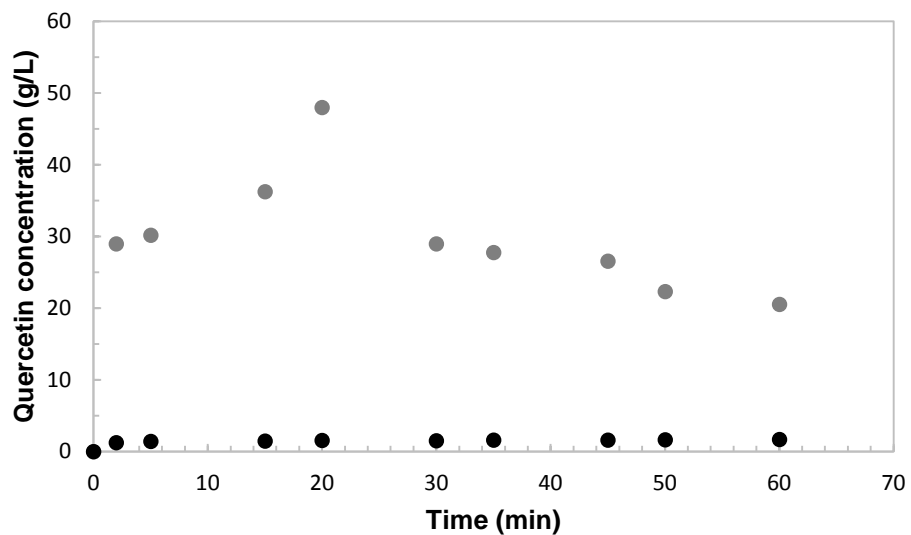
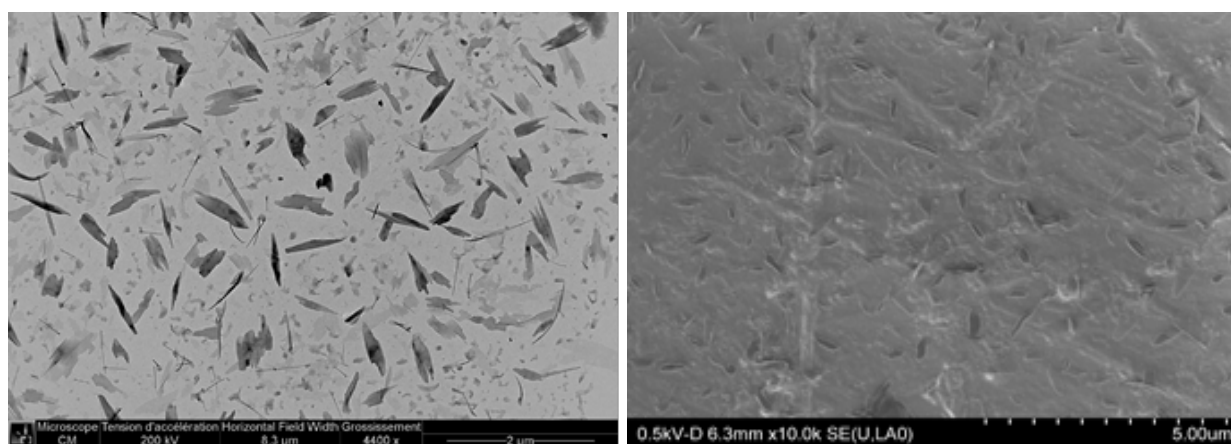
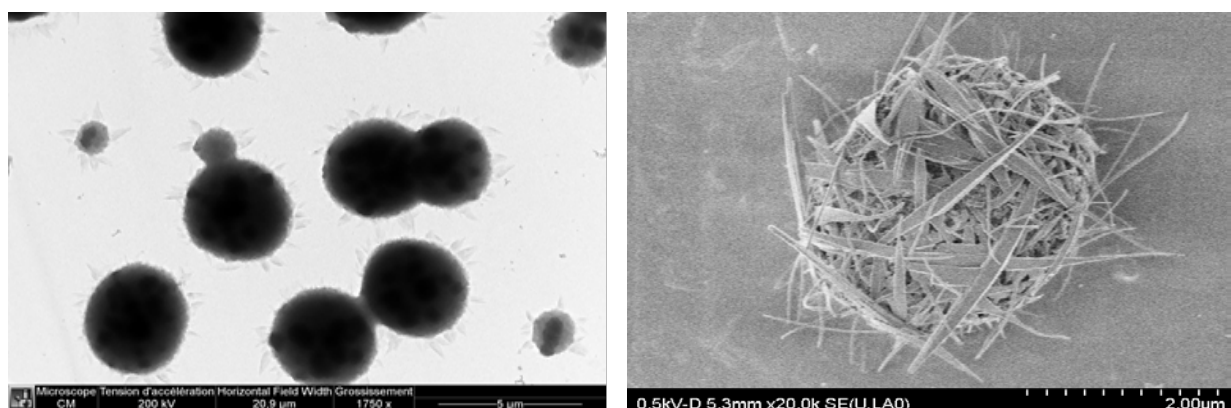


Figure V.9 : Dissolution kinetics of quercetin in *tert*-amyl alcohol (dark gray) and in acetonitrile (black)



A

B



C

D

Figure V.10 : Pictures of quercetin particles in acetonitrile (A, TEM and B, SEM) and *tert*-amyl alcohol (C, TEM and A, SEM) of the initial sample (dissolution time 5 min)

For isoquercitrin, Figures 6 and 8 showed the absence of isoquercitrin beads aggregation in both acetonitrile and *tert*-amyl alcohol (P values of solvent ≈ 0.0008) which are consistent with the experimental (data not shown).

For rutin/acetonitrile system, Figures 7 and 8 reported the absence of rutin beads aggregation. However, rutin/ *tert*-amyl alcohol system (50 g/L) showed an aggregation after 4000 steps of simulation (P values of solvent ≈ 0.0045). This aggregation was not observed experimentally. In order to verify the impact of rutin concentration on aggregation phenomena, Mesodyn simulation was done with 30 g/L of rutin. It can be seen in Figure V.7 and V.8 that rutin beads are dispersed in *tert*-amyl alcohol with P values of solvent ≈ 0.0008 .

3.4. Prediction of phase separation by Mesodyn simulations

λ_{ij} repulsion parameters were calculated using χ_{ij} . Results are shown in Table V.5.

Table V.5 : λ_{ij} via Emix-dependent method at 323 K (kJ/mol). Quercetin (B1 and B2) and isopropanol (ISPL)

Bead	B1	B2	ISPL
B1	0		
B2	19.30	0	
ISPL	45.79	1.93	0

Considering all the previous results, we tried to predict the solubility behaviors of quercetin in isopropanol. The snapshots of the solubilization process of quercetin in isopropanol show, as in *tert*-amyl alcohol, an aggregation phenomena (Figure V.11). The order parameter confirms this phenomena (Figure V.12). This aggregation was validated by the solubilization profile of quercetin in isopropanol observed experimentally (Figure V.13).

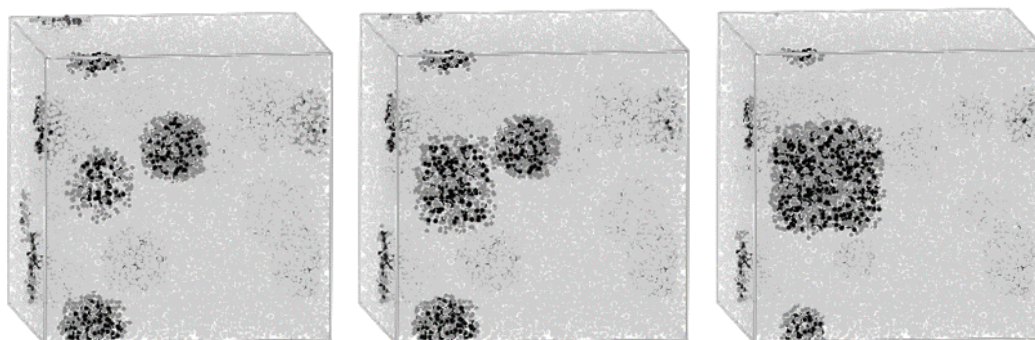


Figure V.11 : Snapshots of solubilization process of quercetin (B1, B2) in isopropanol (ISP) (50 g/L) at (A) 1 step, (B) 500 000 steps and (C) 1 000 000 steps. B1 beads are in black, B2 beads are in dark gray and ISP in light gray

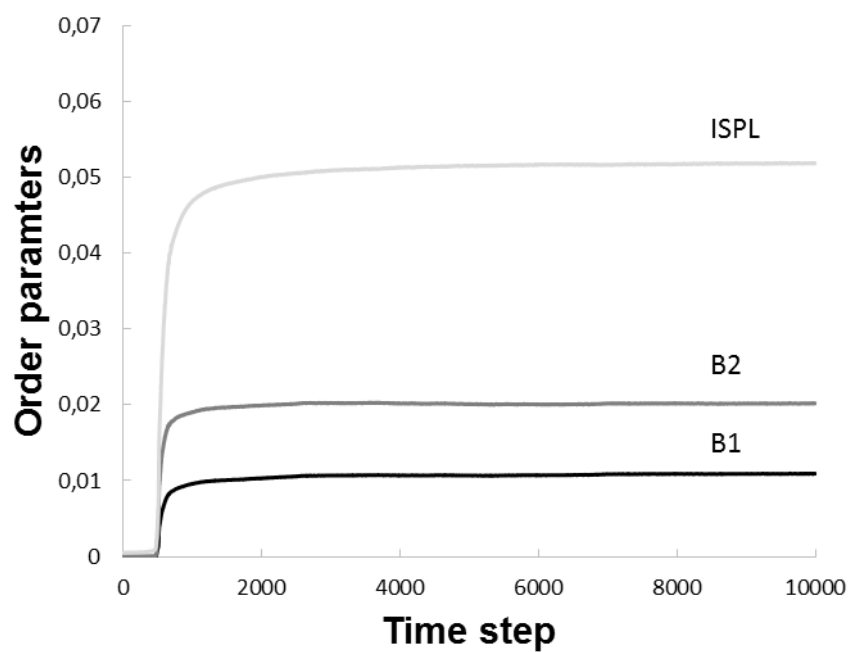


Figure V.12 : Order parameter plots with time evolution for all beads in quercetin / isopropanol system

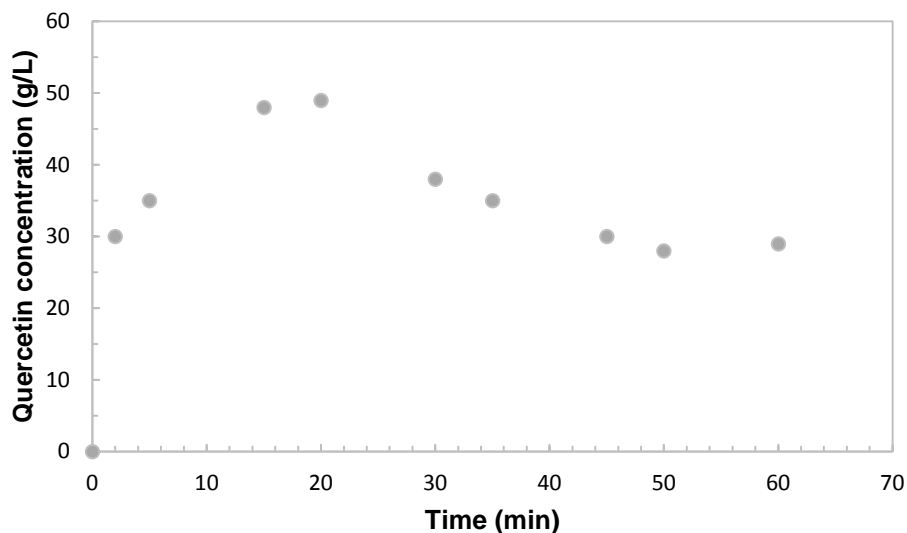


Figure V.73 : Dissolution kinetics of quercetin in isopropanol (light gray)

4. Conclusion

The MC simulations using COMPASS force field and mesoscale DPD and MesoDyn simulations have been used to investigate the dissolution of flavonoids in different solvents. Atomistic and mesoscopic simulations confirmed the reported experimental data to understand the compatibility/incompatibility of the blends (flavonoid/solvent). It is found that the B2 part of the studied flavonoids is responsible of the solubility behaviour in the different solvents tested. The findings are based on the calculated χ_{FH} for blends. The $g(r)$ of the intermolecular pairs of quercetin/*tert*-amyl alcohol system also indicates that B1-MB and B2-MB bead pairs are immiscible. The order parameter of beads shows phase separation in the case of quercetin/ *tert*-amyl alcohol system. Indicating that quercetin aggregates in *tert*-amyl alcohol. The obtained results are interesting in order to have an idea on the solubility and the dispersion of flavonoid in organic solvents.

References

1. Arora, M. G. Nair, and G. M. Strasburg, "Structure-Activity Relationships for Antioxidant Activities of a Series of Flavonoids in a Liposomal System," *Free Radical Biology & Medicine* 24, no. 9 (June 1998): 1355–63.
2. P. G. Pietta, "Flavonoids as Antioxidants," *Journal of Natural Products* 63, no. 7 (July 2000): 1035–42, doi: 10.1021/np9904509.
3. C. A. Rice-Evans and D. Bagchi, "Nutritional Proanthocyanidins, Flavonoids, and Related Phenols," *Antioxidants & Redox Signaling* 3, no. 6 (December 2001): 939–40, doi: 10.1089/152308601317203486.
4. S. Burda and W. Oleszek, "Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, no. 6 (June 2001): 2774–79, doi: 10.1021/jf001413m.
5. G. Di Carlo et al., "Flavonoids: Old and New Aspects of a Class of Natural Therapeutic Drugs," *Life Sciences* 65, no. 4 (June 18, 1999): 337–53, doi:10.1016/S0024-3205(99)00120-4.
6. Middleton E Jr;Kandaswami C;Theoharides TC, "The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer.," *Pharmacological Reviews* 52, no. 4 (December 1, 2000): 673–751.
7. Daniel P. Otto, Anja Otto, and Melgardt M. de Villiers, "Experimental and Mesoscale Computational Dynamics Studies of the Relationship between Solubility and Release of Quercetin from PEG Solid Dispersions," *International Journal of Pharmaceutics* 456, no. 2 (November 18, 2013): 282–92, doi:10.1016/j.ijpharm.2013.08.039.
8. Dan Mu, Jian-Quan Li, and Sheng-Yu Feng, "MesoDyn Simulation Study on the Phase Morphologies of Miktoarm PEO-B-PMMA Copolymer Doped by Nanoparticles," *Molecular Physics* 111, no. 5 (March 1, 2013): 687–95, doi:10.1080/00268976.2012.741722.
9. Xingxing Dai et al., "Solubilization of Saikosaponin a by Ginsenoside Ro Biosurfactant in Aqueous Solution: Mesoscopic Simulation," *Journal of Colloid and Interface Science* 384 (October 15, 2012): 73–80, doi:10.1016/j.jcis.2012.06.018.
10. P. V. Coveney, "Modeling Structure and Properties in Mesoscale Fluid Systems," in *Mesoscale Phenomena in Fluid Systems*, ed. F. Case and P. Alexandridis, vol. 861 (Washington: Amer Chemical Soc, 2003), 206–26.
11. PJ HOOGERBRUGGE and JMVA KOELMAN, "SIMULATING MICROSCOPIC HYDRODYNAMIC PHENOMENA WITH DISSIPATIVE PARTICLE DYNAMICS," *Europhysics Letters* 19, no. 3 (June 1, 1992): 155–60, doi:10.1209/0295-5075/19/3/001.
12. MI Connolly, "Solvent-Accessible Surfaces of Proteins and Nucleic-Acids," *Science* 221, no. 4612 (1983): 709–13, doi:10.1126/science.6879170.

13. R. D. Groot and P. B. Warren, "Dissipative Particle Dynamics: Bridging the Gap between Atomistic and Mesoscopic Simulation," *Journal of Chemical Physics* 107, no. 11 (September 15, 1997): 4423–35, doi:10.1063/1.474784.
14. JGEM Fraaije et al., "The Dynamic Mean-Field Density Functional Method and Its Application to the Mesoscopic Dynamics of Quenched Block Copolymer Melts," *Journal of Chemical Physics* 106, no. 10 (March 8, 1997): 4260–69, doi:10.1063/1.473129.
15. N. M. Maurits and JGEM Fraaije, "Application of Free Energy Expansions to Mesoscopic Dynamics of Copolymer Melts Using a Gaussian Chain Molecular Model," *Journal of Chemical Physics* 106, no. 16 (April 22, 1997): 6730–43, doi:10.1063/1.473670.
16. Dan Mu, Jian-Quan Li, and Yi-Han Zhou, "Modeling and Analysis of the Compatibility of Polystyrene/Poly(methyl Methacrylate) Blends with Four Inducing Effects," *Journal of Molecular Modeling* 17, no. 3 (March 2011): 607–19, doi:10.1007/s00894-010-0755-z.
17. Latifa Chebil et al., "Elucidation of the Kinetic Behavior of Quercetin, Isoquercitrin, and Rutin Solubility by Physicochemical and Thermodynamic Investigations," *Industrial & Engineering Chemistry Research* 52, no. 4 (January 30, 2013): 1464–70, doi:10.1021/ie3029202.
18. Latifa Chebil et al., "Solubilities Inferred from the Combination of Experiment and Simulation. Case Study of Quercetin in a Variety of Solvents," *Journal of Physical Chemistry B* 114, no. 38 (September 30, 2010): 12308–13, doi:10.1021/jp104569k.
19. Zhonglin Luo and Jianwen Jiang, "pH-Sensitive Drug Loading/Releasing in Amphiphilic Copolymer PAE-PEG: Integrating Molecular Dynamics and Dissipative Particle Dynamics Simulations," *Journal of Controlled Release* 162, no. 1 (August 20, 2012): 185–93, doi:10.1016/j.jconrel.2012.06.027.
20. Zhonglin Luo and Jianwen Jiang, "Molecular Dynamics and Dissipative Particle Dynamics Simulations for the Miscibility of Poly(ethylene Oxide)/Poly(vinyl Chloride) Blends," *Polymer* 51, no. 1 (January 6, 2010): 291–99, doi:10.1016/j.polymer.2009.11.024.
21. Hakima Abou-Rachid et al., "On the Correlation between Miscibility and Solubility Properties of Energetic Plasticizers/Polymer Blends: Modeling and Simulation Studies," *Propellants Explosives Pyrotechnics* 33, no. 4 (August 2008): 301–10, doi:10.1002/prop.200700211.
22. Junqing Yang et al., "Molecular Dynamics and Dissipative Particle Dynamics Simulations of the Miscibility and Mechanical Properties of GAP/DIANP Blending Systems," *Rsc Advances* 4, no. 79 (2014): 41934–41, doi:10.1039/c4ra04236k.
23. Hui Wu and Yong Xin, "Molecular Dynamics and MesoDyn Simulations for the Miscibility of Polyvinyl Alcohol/Polyvinyl Pyrrolidone Blends," *Plastics Rubber and Composites* 46, no. 2 (2017): 69–76, doi:10.1080/14658011.2017.1280642.

Contribution de l'article

Des simulations par dynamique moléculaire, utilisant le champ de force COMPASS, ainsi que des simulations par DPD et par MesoDyn ont été conduites pour étudier la dissolution de trois flavonoïdes (quercétine, rutine et isoquercétine) dans différents solvants organiques. Il s'est avéré que la partie B2 (cycle B), commune aux trois flavonoïdes, est la principale responsable de leur comportement de solubilité dans les différents solvants testés. En effet, le paramètre de Flory Huggins calculé à 50°C pour les interactions B2-M2B2 et B2-ACN pour les trois flavonoïdes testés était de 0.67 et -3.55 respectivement, ce qui nous renseigne sur une bonne miscibilité de la perle B2 dans le premier solvant et une faible miscibilité dans le deuxième. Le $g(r)$ obtenu par DPD, pour les interactions intermoléculaires au sein du système quercétine / alcool *ter*-amylique indique également que les paires de perles B1-MB et B2-MB sont immiscibles. Pour le même système, le paramètre d'ordre P a montré une séparation de phases, expliquant les agrégats formés par la quercétine, observés expérimentalement au cours du temps, dans l'alcool *ter*-amylique.

Les résultats obtenus montrent que la méthodologie développée dans ce chapitre est efficace pour comprendre le comportement des molécules en solution. Elle sera par la suite appliquée à des systèmes beaucoup plus complexes comme les assemblages polymère/flavonoïde.

Résultats et discussion

Chapitre VI

VI. Développement d'une approche multi- échelle pour l'étude des assemblages PLGA/quercétine

Introduction

Plusieurs méthodes physicochimiques ont été proposées dans la littérature pour remédier à la faible solubilité de la quercétine dans l'eau. Les assemblages flavonoïdes/polymères font partie des méthodes efficaces pour augmenter la solubilité des flavonoïdes dans l'eau. Toutefois, l'étape d'optimisation de ces assemblages peut être longue et fastidieuse. Afin, de comprendre les phénomènes qui gouvernent ces assemblages et de prédire leur formation, une démarche de modélisation moléculaire et mésoscopique a été mise en place. Un système modèle a été choisi. Il s'agit du système poly(lactide-co-glycolide)/ quercétine. Plusieurs facteurs sont étudiés : la concentration (1 g/L, 2 g/L et 10 g/L) et le type de PLGA (PLGA 50/50, PLGA 65/35, et PLGA 75/25), la concentration en quercétine (0,1 g/L, 0,5 g/L et 2 g/L) et la concentration de l'émulsifiant PVA (0,5 %, 1 % et 5 %).

Les résultats issus des simulations moléculaires et mésoscopiques sont validés expérimentalement par différentes méthodes tels que la formation de nanoparticules par la méthode d'évaporation de solvant et la taille et la morphologie des particules par DLS et MET.

Experimental and mesoscale computational dynamics studies of quercetin and poly-lactic-co-glycolic acid PLGA assemblies

Manel SLIMANE¹, Latifa CHEBIL^{1*} and Mohamed GHOUL¹

¹Lorraine University – Laboratory Reactions and Process Engineering (LRGP)

2 avenue de la Forêt de Haye – TSA 40602 54518 VANDOEUVRE CEDEX FRANCE

E-mail : firstname.lastname@univ-lorraine.fr

*Corresponding author: latifa.chebil@univ-lorraine.fr

Abstract

In this paper, the effect of formulation parameters on the formation of PLGA-Q nanoparticles was investigated based on a multi-scale approach combining experimental, molecular and mesoscale modeling. Quercetin is a widely known flavonoid for its antioxidant properties but also for its poor solubility and stability in water. PLGA represents a family of FDA (Food and drug administration)-approved biodegradable polymers, physically solid, highly biocompatible and widely studied as vehicle for the release of several active ingredients and macromolecules. In order to understand the behavior of quercetin in presence of PLGA, MesoDyn simulations were used. Phase separation over time and order parameter (P) were deduced from MesoDyn Simulations and used to characterize the observed aggregates. The system formed by 10 g/L of PLGA, 0.5g/L of Q and 0.5% of PVA, leads to well established system. Aggregates were observed with P_{water} equal to 0.018. The increasing PLGA and quercetin concentrations and LA content in PLGA favor the formation of particle with big size. MesoDyn simulations showed that the system is composed in this order: B1/B2/LA/GA/PVA/W. Experimentally, nanoparticles were elaborated by solvent displacement method, in the same simulation conditions. Transmission Electron Microscopy (TEM) and Dynamic light scattering (DLS) were used to observe and to measure the size of formed particles. The obtained results indicated that experimental investigations corroborate the simulated ones. Therefore, computational mesoscopic modeling can be successfully applied to predict PLGA-Q assemblies under different operating conditions.

Keywords: Quercetin; PLGA; Mesoscale modeling; MesoDyn; Nanoparticles

1. Introduction

Quercetin (2- (3, 4-dihydroxyphenyl) -3, 5, 7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one) is a flavonoid belonging to the class of flavonols widely distributed in plant kingdom. The chemical structure of quercetin comprises a common flavone nucleus composed of two benzene rings A and B bridged by a pyran heterocycle C. Figure VI.1 shows the structure of quercetin. The antioxidant properties of this flavonoid are at the origin of several biological activities. Quercetin has a high antioxidant power compared to other flavonoids (Harwood et al., 2007). This activity is linked to its anti-carcinogenic effect (Chen et al., 2010, Vidya Priyadarsini et al., 2010), anti-fibrotic, anticoagulant, antibacterial, anti- antihypertensive and anti-inflammatory properties (Harwood et al., 2007). Nevertheless, the solubility of quercetin in water (<0.01 (g/L), (Calias et al., 1996)) is very weak (Chebil et al., 2010; Chebil et al., 2013; Rothwell et al., 2005; Waldmann et al., 2012). Many strategies were developed to improve its solubility and stability by physicochemical approaches. As an example, it was suggested to encapsulate the quercetin in polymeric nanoparticles to overcome those problems (Pool et al., 2012; Otto et al., 2013; Dian et al., 2014; Fraile et al., 2014; Jain et al., 2013). Poly-lactic-co-glycolic acid (PLGA) is the most successful polymeric biomaterial used to control drug delivery in different systems (Hines et Kaplan, 2013) due to its good biocompatibility and degradability in physiological media (Makadia et Siegel, 2011; Fredenberg et al., 2011). PLGA has the ability to encapsulate a wide range of active ingredients having different molecular sizes (Xu et al., 2017). Its biodegradation releases lactic acid (LA) and glycolic acid (GA), which are biologically inert to growing cells and are removed from the body via normal metabolic pathways (Cabezas et al., 2014). The commonly used methods to encapsulate drugs into PLGA nanoparticles are emulsion solvent evaporation (Song et al., 2008), nanoprecipitation (Bilati et al., 2005), solvent displacement (Teixeira et al., 2005) and salting-out (Perugini et al., 2002). In order to explain the interactions between drugs and polymers, many authors used molecular and mesoscale dynamics (Wang et al., 2017; Otto et al., 2013; Hongyan et al., 2012; Li et al., 2005; Zheng et al., 2011; Chansuna et al., 2014). In this work, MesoDyn simulations were used in order to elucidate the behavior of quercetin in water and in presence of PLGA. Results obtained from simulations were compared to experimental data. The main objective is to develop an efficient methodology to explain and predict aggregation and phase separation behavior for small molecules / polymer systems. The

effect of the concentrations of PVA (polyvinyl alcohol), quercetin and PLGA and the LA: GA ratio on the aggregation phenomena was studied.

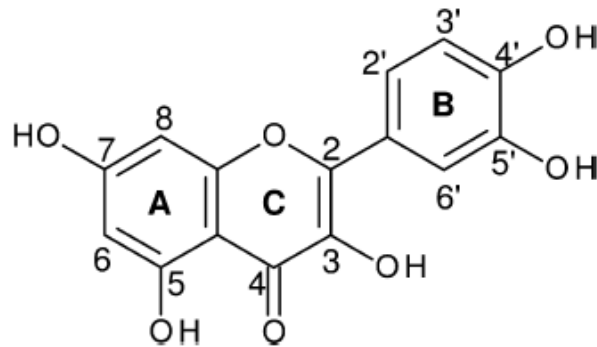


Figure VI.1 : Quercetin structure

2. Materials and methods

2.1. Study of quercetin behavior in water and in presence of PLGA with MesoDyn

2.1.1. Theory in MesoDyn

The MesoDyn simulation method is based on the density functional theory DFT which means that the free energy F of an inhomogeneous liquid is a function of the local density function ρ . All thermodynamic functions can be derived from F . It's a method based on beads of various types I, JThe interactions between beads are described by harmonic oscillator potentials for the intramolecular interactions (Gaussian chain) and a mean field potential for all other interactions (Doi and Edwards, 1986). The dynamics of the system are described by a set of functional Langevin equations. They represent diffusion equations in the component densities, which take account of the noise in the system.

On a coarse-grained time scale, $\rho^0(r)$ is defined as a collective concentration field of beads of type I at an instant of time and serves as a reference level. There will be characterized by certain distribution of bead positions, defined as $\Psi(R_{11}, \dots, R_{nN})$, where $R_{\gamma s}$ is the position of bead s from chain γ . With a distribution Ψ , the collective concentration of the bead (s) from all chains can be defined by the average of a microscopic density operator:

$$\rho_I[\Psi](r) \equiv \sum_{\gamma=1}^n \sum_{s=1}^N \delta_{IS}^K Tr \Psi \delta(r - R_{\gamma s}) \quad (\text{VI.1})$$

where δ_{IS}^K is the Kronecker function with value 1 when bead s is of type I and 0 otherwise.

It is supposed that in the liquid with slow relaxation, interactions do not depend on the momenta. A set of distribution functions Ψ is defined with the constraint $\rho_0^I(r) = \rho_i[\Psi](r)$. All distributions Ψ lead to the same density $\rho_i^0(r)$ forming thus an equivalence class Ω of distribution functions:

$$\Omega = \{\Psi(R_{11}, \dots, R_{nN}) | \rho_i[\Psi](r) = \rho_i^0(r)\} \quad (\text{VI.2})$$

From this a set of distribution functions and an intrinsic free-energy functional $F[\Psi]$ can be defined:

$$F[\Psi] = Tr(\Psi H^{id} + \beta^{-1} \Psi \ln \Psi) + F^{nid}[\rho^0] \quad (\text{VI.3})$$

The first term is the average value of the Hamiltonian for internal Gaussian chain interactions (Barber and Ninham, 1970; Abe et Mark, 1976). The second term represents the Gibbs entropy of the distribution $-k_B T \Psi \ln \Psi$. The third term is the mean-field nonideal contribution. Ψ is independent of the history of the system and is fully characterized by the constraints that it represents the density distribution and minimizes the free-energy function. This constraint on the density fields is realized by means of an external potential U_i .

The constraint minimization of the free energy functional leads to an optimal distribution, which in turn, and by the one-to-one relation between densities, distributions, and external potential. It can be written as:

$$\beta F[\rho] = n \ln \Phi + \beta^{-1} \ln n! - \sum_I \int U_I(r) \rho_I(r) dr + \beta F^{nid}[\rho] \quad (\text{VI.4})$$

Then, the model for the non-ideal free energy functional is introduced,

$$F^{nid}[\rho] = \frac{1}{2} \iint \epsilon_{II}(|r - r'|) \rho_I(r) \rho_I(r') + \epsilon_{IJ}(|r - r'|) \rho_I(r) \rho_J(r') + \epsilon_{JI}(|r - r'|) \rho_J(r) \rho_I(r') + \epsilon_{JJ}(|r - r'|) \rho_J(r) \rho_J(r') dr dr' \quad (\text{VI.5})$$

where $\epsilon_{IJ}(|r - r'|)$ is a mean-field energetic interaction between beads of type I at r and type J at r' .

The mean-field intrinsic chemical potentials can be derived by functional differentiation of the free energy: $\mu_I(r) = \delta F / \delta \rho_I(r)$. At the equilibrium, $\mu_I(r) = \text{constant}$, which gives the familiar self-consistent-field equations for the mean-field Gaussian chain model. Generally,

these equations have many solutions, one of them will be a state of lowest free energy; most states will be metastable. Based on those equations, the generalized time-dependent Ginzburg-Landau theory can be set up.

The following Langevin equations for the diffusive dynamics of the density fields are introduced:

$$\frac{\partial \rho_I}{\partial t} = Mv_J \nabla \rho_I \rho_{BJ} \nabla [\mu_I - \mu_J] + \eta \quad (\text{VI.6})$$

$$\frac{\partial \rho_J}{\partial t} = Mv_J \nabla \rho_I \rho_J \nabla [\mu_J - \mu_I] + \eta \quad (\text{VI.7})$$

with M the mobility of the bead, $Mv_J \rho_I \rho_J$ the kinetic coefficient, η the blank Gaussian noise and μ the diffusion coefficient.

The integration of those equations by the clack-Nickelson algorithm, will generate a set of density fields giving the Boltzmann distribution.

So, MesoDyn describes the free energy of heterogeneous system that would result in phase separation as a function of the local density of that component over time (Fraaije et al., 1997; Maurits et Fraaije, 1997; Otto et al., 2013).

The distribution of the Gaussian noise η follows the fluctuation-dissipation theorem:

$$\langle \eta(r, t) \rangle = 0 \quad (\text{VI.8})$$

$$\langle \eta(r, t) \eta(r', t') \rangle = -\frac{2Mv_J}{\beta} \delta(t - t') \nabla_r \times \delta(r - r') \rho_I \rho_J \nabla_{r'} \quad (\text{VI.9})$$

where M is a bead mobility parameter.

The kinetic coefficient $Mv \rho_I \rho_J$ models a local exchange mechanism. The Langevin equations are made for an incompressible system with dynamic constraint:

$$\left(\rho_I(r, t) + \rho_J(r, t) \right) = \frac{1}{v_B} \quad (\text{VI.10})$$

where v_B is the average bead volume (Li et al., 2005).

2.1.2. System studied

In the MesoDyn method, the molecules are defined on a coarse-grained level as “Gaussian chains of beads”. Each bead is of a certain component type representing covalently bonded groups of atoms. Quercetin is divided into two beads respecting the cycles in its structure. For water, every bead was formed by 6 molecules of water. The PLGA and the PVA polymers were defined as a chain of 20 beads each with a single monomer per bead (Figure VI.2). For PLGA, every bead contained a monomer of lactic acid LA or glycolic acid GA respecting the ratio LA: GA. After testing the characteristic ratio method (Flory, 1953), we observed that tolerance limit to integrate the Langevin equations by the Clarck-Nickelson algorithm was reached. So, we choose to simplify the system using 20 beads of polymeric chain. In fact some authors, have suggested that for polymers, with high molecular weight, simplified polymeric chains of beads do not have an effect on the simulated properties (Desrosiers, 2009; Xu et al., 2016).

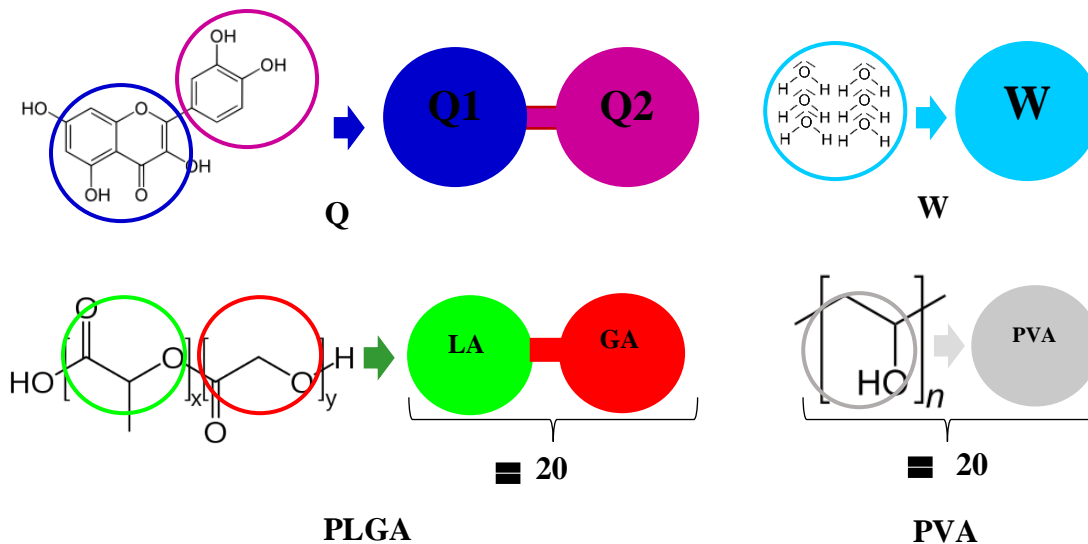


Figure VI.2 : Coarse-grained model: molecules and monomer conversion into beads for Quercetin (Q), Poly (Lactic-co-Glycolic acid) (PLGA), Polyvinyl alcohol (PVA) and Water (W)

2.1.3. MesoDyn interaction parameter calculation

- *Solubility parameter-dependent method*

The solubility parameter-dependent method was used to calculate the Flory Huggins parameter depending on the Hildebrand solubility (Hildebrand, 1950) of the different compounds. χ_{IJ} can be deduced from the resolution of the following equation:

$$\chi_{IJ} = [(\delta_I - \delta_J)^2 \times ((V_I + V_J)/2)]/RT \quad (\text{VI.11})$$

where δ_I and δ_J are the solubility parameters of the beads I and J; V_I and V_J are the molar volumes of the beads I and J respectively, R is the universal gas constant and T the absolute temperature. The molar volume of a single component was determined from the molecular weight of the bead and its density (Table VI.1). It was calculated by dividing the molecular weight M_w by the density ρ as shown in equation VI.12 (Table VI.1).

$$V = M_w/\rho \quad (\text{VI.12})$$

- ***Solubility parameter calculation***

To calculate the solubility parameter of each molecule or monomer forming the different beads, a simulation box was constructed with the pure component using Amorphous Cell in Materials Studio 7.0. Its geometry was optimized through molecular dynamics via the Discover module. To define the force field potentials of the interatomic interactions, the COMPASS (condensed-phase optimized molecular potentials for atomistic simulation studies) was used as suggested by (Sun, 1998).

It can be expressed in terms of energy in a simplified manner by Equation VI.13:

$$E_{total} = E_{valence} + E_{crossterm} + E_{non-bond} \quad (\text{VI.13})$$

where $E_{valence}$ is the bond extension energy, torsion and configurational interactions, $E_{crossterm}$ describes the energies of movement distortions valence term couplings. $E_{non-bond}$ defines the intermolecular Coulomb, Van der Waals and hydrogen bonding forces.

After different optimizations, Forcite (Materials studio 7.0) was used to perform molecular dynamics. All simulations were done with an integration step of 1 fs. COMPASS was used to describe all interatomic interactions with Ewald summation for the long range electrostatics. First, an NPT (constant number of particles and constant pressure and temperature) ensemble dynamics was performed for 500 ps to equilibrate the density of the system at a temperature of 298K and pressure of 1 atm. After that, another dynamic was performed in the NVT (constant number of particles and constant volume and temperature) ensemble at 298K for 500 ps to follow the convergence of the cohesive energy density (CED). Only the last 50 ps were used to calculate averaged Hildebrand solubility parameter from the square root of the CED and the standard deviation for each component. The Andersen thermostat (Andersen, 1980) and the Berendsen barostat (Berendsen et al., 1984) were used for all the dynamics. The obtained solubility parameters and density of all compounds are presented in Table VI.1.

Table VI.1 : Molecular weight Mw, density ρ , bead volume V and solubility parameter δ of repeating units and molecules (LA, GA, PVA, Q1, Q2 and W: Figure VI.2)

Compound	Repeating unit	Density ρ	Volume V ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	Solubility parameter δ
	Mw ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)	($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$) COMPASS		($\text{j} \cdot \text{cm}^{-3}$) ^{1/2} COMPASS
LA	72	1.197	60.16	30.06
GA	58	1.295	44.77	38.2
PVA	44	0.793	55.42	27.87
Q1	193	1.490	129.5	27.23
Q2	109	1.360	80.14	28.06
W	18	0.988	109.3	47.42

- **Interaction parameter (λ_{ij}) calculation**

The interaction parameters that were used in the MesoDyn simulations were calculated at 298K with Equation VI.14 (Mu et al., 2013):

$$\lambda_{IJ} = \chi_{IJ}RT \quad (\text{VI.14})$$

where χ_{IJ} is the Flory Huggins parameter, R is the universal gas constant and T the absolute temperature. The interaction parameter λ_{IJ} is obtained in $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Table VI.2 : Interaction parameter λ_{ij} according to equation VI.14

λ_{ij}	LA	GA	PVA	Q1	Q2	W
LA	0					
GA	3.48	0				
PVA	0.11	2.16	0			
Q1	0.47	3.78	$5.97 \cdot 10^{-5}$	0		
Q2	0.28	2.59	$9.88 \cdot 10^{-4}$	$5.3 \cdot 10^{-3}$	0	
W	22.64	2.31	11.22	18.03	14.16	0

2.1.4. MesoDyn run parameters

Simulation boxes of $32 \text{ nm} \times 32 \text{ nm} \times 32 \text{ nm}$ dimensions were used. The bond length was set to 1.1543 to ensure isotropy of all grid-restricted operators. The diffusion coefficient of all beads was $1.0 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ to ensure a stable numerical algorithm. The time step was 50 ns and 1 million simulation steps were used. The temperature was set at 298 K. The noise scaling parameter was set to the default values of 75.002 and the compressibility ratio was fixed at the default of 10.0 (Otto et al., 2013; Maurits et al., 1997; Van Vlimmeren and Fraaije, 1996).

2.1.5. Aggregation or phase separation behavior

The aggregation and phase separation behavior of different beads was followed by the order parameter, P . P is a time dependent parameter obtained as an output of the MesoDyn simulation. It is defined as the average volume of the difference between local density squared and the overall density squared (equation VI.15) (Dai et al., 2012)

$$P = \frac{1}{V} \int_V [\eta_i^2(r) - \eta_i^2] dr \quad (\text{VI.15})$$

Where P is the time-dependent order parameter of a component I , V is the cell volume, $\eta_i^2(r)$ is the local density distributions of a component within the sampling distance r and η_i^2 the average system density distribution of the component beads.

An increase in the value of P indicates a larger extents of phase separation. The decrease of this value indicates a good miscibility and a more randomly mix behavior. A P value of 0 indicates that all compounds are ideally miscible. The behavior of miscibility or phase separation of all the compounds can be followed over time.

2.2. Materials

Quercetin hydrate ($\geq 98\%$), different types of poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA 75/25; PLGA 65/35 and PLGA 50/50), polyvinyl alcohol PVA 87-89% hydrolyzed and acetone ($\geq 99.9\%$) were purchased from Sigma Aldrich. High quality water purified in a Milli-Q plus system was used in all experiments.

2.3. Nanoparticle preparation

PLGA nanoparticles loaded with quercetin were prepared by the solvent displacement method as given by Fessi et al. with minor modifications (Fessi et al., 1989; Alvarez-Román et al., 2001). The organic phase was formed by the dissolution of various amounts of PLGA (1 to 10 g/L) and Q (0.1 to 2 g/L) in a water miscible solvent (acetone) under magnetic stirring for 30 min at 25°C. The aqueous solution contains various amounts of PVA (0.5 to 5%). PVA was solubilized in water for 24 h under stirring at 25°C, than the mixture was heated at 90°C for 30 minutes under a constant stirring rate. The PLGA solution was then poured slowly into the aqueous solution under stirring with a syringe. The addition of the organic phase results of a spontaneous emulsification and the formation of PLGA-Q nanodroplets. The organic phase was then removed by evaporation under reduced pressure at 37°C. A colloidal suspension of PLGA-Q nanoparticles in water was obtained.

The effect of the concentration of PLGA and Q in the organic phase, the concentration of PVA in the aqueous phase and lactide to glycolide (LA:GA) ratio of PLGA was studied. All experiments were conducted by varying one parameter and keeping the others at standard values (10 g/L of PLGA, 0.5 g/L of Q and 0.5% of PVA). The aqueous-to-organic phase volume ratio was 2:1 (40 ml of water and 20 ml of acetone). Three batches of each solution as well as comparison samples (PLGA nanoparticles without quercetin) were prepared.

2.4. Particle size measurements

The mean particle diameter and polydispersity index (PI) of the nanoparticles were determined by dynamic light scattering DLS (Zetasizer V7.11, Malvern Instruments UK). The samples were diluted with distilled water to ensure that the number of particles counted per second was within the range of the instrument's sensitivity. Measurements were made at an angle of 90° for 180 s at 25°C. Measurements were made in triplicate, and the results are shown as mean ± standard error.

2.5. Morphology of the particles

The morphology of the PLGA-Q nanoparticles was examined by transmission electron microscopy TEM (Philips CM200, 200 kV). Samples were placed on a copper grid. After 3 minutes, the excess was removed and samples (nanoparticle suspensions) were stained by an aqueous solution of uranyl acetate 2% (w/v). After 1 minute, the excess was removed and the grid was dried for 5 minutes before introducing the sample into microscope.

3. Results and discussion

MesoDyn simulations and experimental studies were conducted with various PLGA, Q and PVA concentrations and with three types of PLGA depending on the lactic to glycolic acid ratio.

3.1. Study of aggregation phenomena by MesoDyn simulations

3.1.1. Effect of PVA concentration on aggregation phenomena

PVA is used as an emulsifier in nanoparticles formation process. It's also used as a stabilizer (Rosenblatt et Bunjes, 2009) to avoid coalescence phenomena between particles.

In order to study the role of PVA in the PLGA/Q/PVA/water system, MesoDyn simulations were conducted with 3 different PVA concentrations (0.5%, 1% and 5%). All the other variables were kept constant at standard conditions (PLGA75/25 10 g/L and quercetin 0.5 g/L). Indeed, the MesoDyn method was unable to simulate systems with PVA concentrations

beyond 0.5% (Figure VI.3). Those results can be explained by the low diffusivity of quercetin and PLGA in the system. The order parameter P obtained for PVA 0.5% was 0.018, which indicates an important phase separation and aggregation.

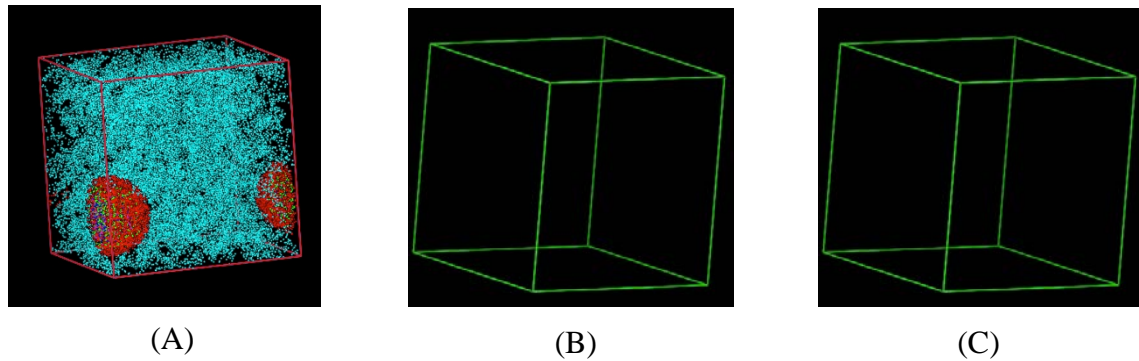


Figure VI.3 : Phase separation over time at final simulation step for different PVA concentrations (A) 0.5% PVA (B) 1% and (C) 5%

In our study, aggregation means the formation of particles. From MesoDyn simulations the organization of different beads in the particles can be observed. As shown in Figure IV.4, the two beads of quercetin B1 and B2 are surrounded by LA beads then GA beads in water. Quercetin is not soluble in water but interacts effectively, via hydrophobic interactions, with PLGA and especially with the LA part (Jain, 2000). The GA part is less hydrophobic than the LA part. This can be the reason why GA is found in the extremities of the bead, in contact with water (FigureIV.4).

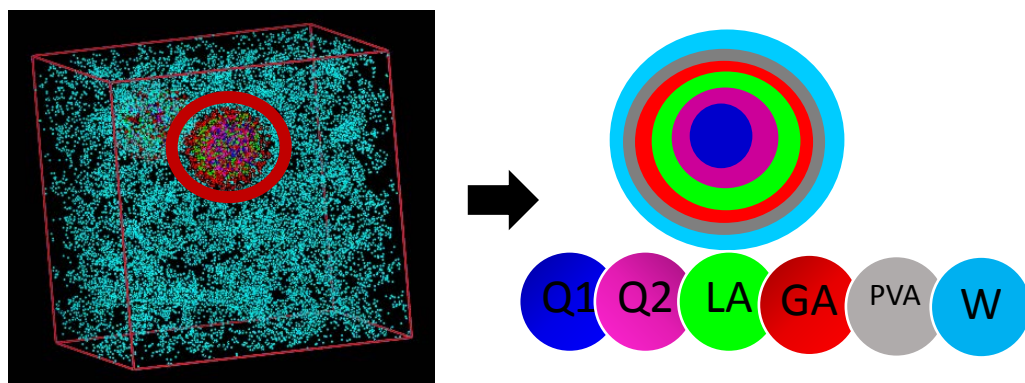


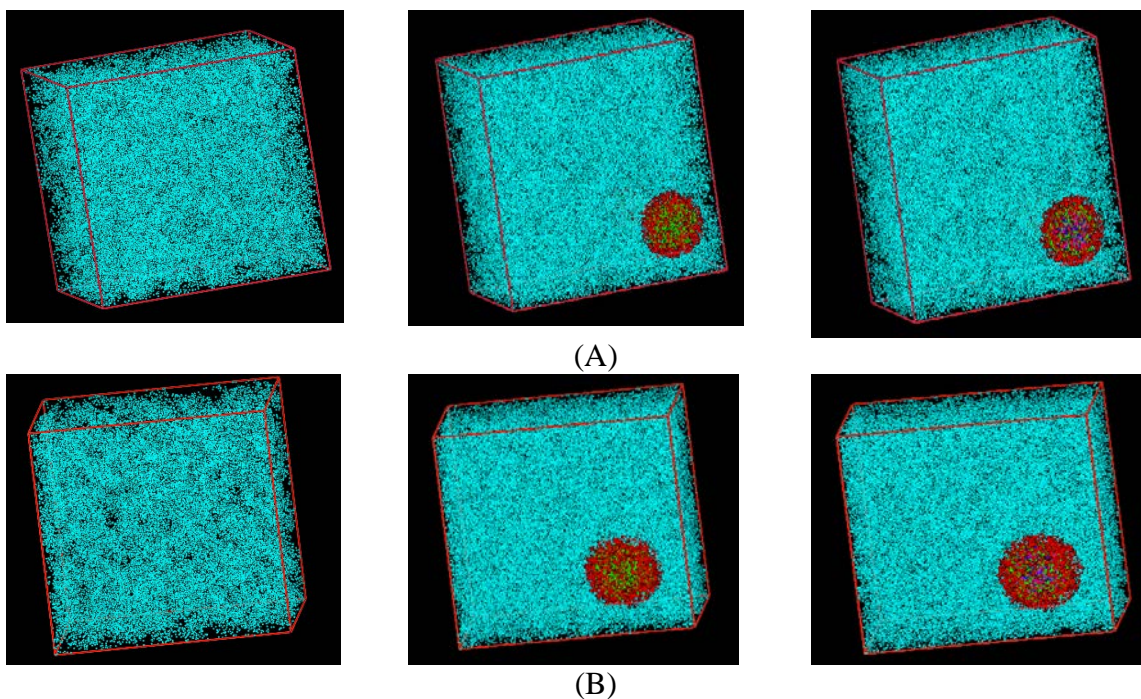
Figure VI.4 : Organization of different system beads in one aggregate

For experimental validations, nanoparticles were formed on the same conditions. Nanoparticles were only obtained at 0.5% of PVA. In fact, in the literature, two opposite results can be obtained while varying PVA concentration. At high concentrations, PVA can be oriented at organic solvent/water interface to reduce the interfacial tension. Consequently, an increase in the net shear stress at a constant energy density was observed leading to the

formation of smaller emulsion droplets (Galindo-Rodriguez et al., 2004; Nandi et al., 2001; Tesch et al., 2002). Budhian et al. (Budhian et al., 2007) reported that the increase of PVA concentration enhance the aqueous phase viscosity and leads to reduced net shear stress and consequently bigger particles. In our case, the determinant behavior of the PVA concentration, was the increase in viscosity which dominated the interfacial tension effect. Beyond 0.5%, particles with 496.2 nm of diameter and polydispersity index $PI > 0.5$ were obtained with DLS. These results are in accordance with those obtained by song et al. (Song et al., 2008).

3.1.2. Effect of quercetin concentration on aggregation phenomena

In order to elucidate the role of quercetin in the PLGA/Q/PVA/water system, MesoDyn simulations were done with Q concentrations of 0.1 g/L, 0.5 g/L and 2 g/L. The phase separation of different beads is described by the order parameter P (table VI.3). A slight increase in P values was observed with the increase of the quercetin concentration leading to a phase separation (0.006, 0.018 and 0.09 for 0.1, 0.5 and 2 g/L, respectively). Aggregation between Q and PLGA is observed and the separation phase particularly with water was followed over time (Figure VI.5).



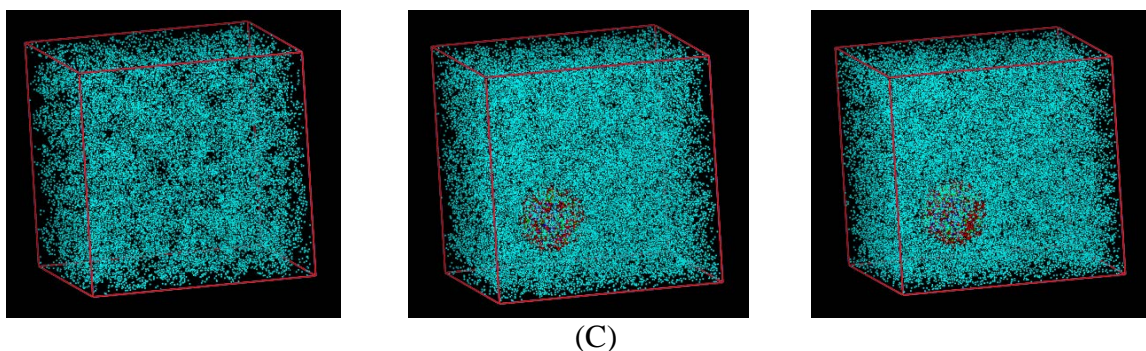


Figure VI.5 : Phase separation over time with different Q concentrations (A) 0.1 g/L (at 0, 82000 and 100000 simulation step respectively) (B) 0.5 g/L (at 0, 80000 and 100000 simulation step respectively) and (C) 2g/L (at 0, 43000 and 100000 simulation step respectively) with 10g/L PLGA and 0.5%PVA

Table VI.3 : Order parameter and time step of the beginning of separation at different Q concentrations

Q (g/L)	Time step	order parameter
0.1	84000	0.006
0.5	1000	0.018
2	44000	0.09

Experimentally, PLGA-Q nanoparticles were prepared using Q concentration of 0.1 g/L, 0.5 g/L, and 2 g/L. PLGA and PVA concentrations are kept at 10 g/L and 0.5%, respectively. The TEM observations (Figure VI.7) showed spherical particles for the different quercetin concentrations as it is indicated in Figure VI.5 provided by MesoDyn simulation. Figure VI.6 shows that the mean diameter of nanoparticles of PLGA-Q increased with quercetin concentration (216.1 ± 2.4 nm for 0.1 g/L of Q, 236.9 ± 1.4 nm for 0.5 g/L of Q and 265.2 ± 0.7 nm for 1 g/L of Q). This results are in contradiction with that reported by Song et al. (Song et al., 2008). Those authors indicated that the amount of initial quercetin has no effect on the PLGA – Q particles size obtained by O/W emulsion solvent evaporation method.

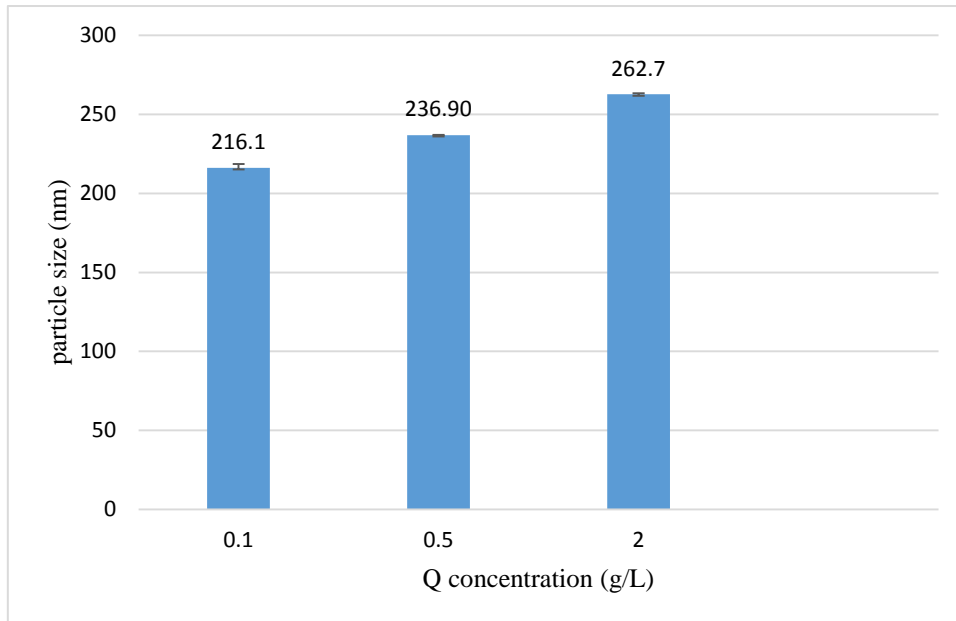


Figure VI.6 : Effect of the Q concentration on the nanoparticles mean-diameter

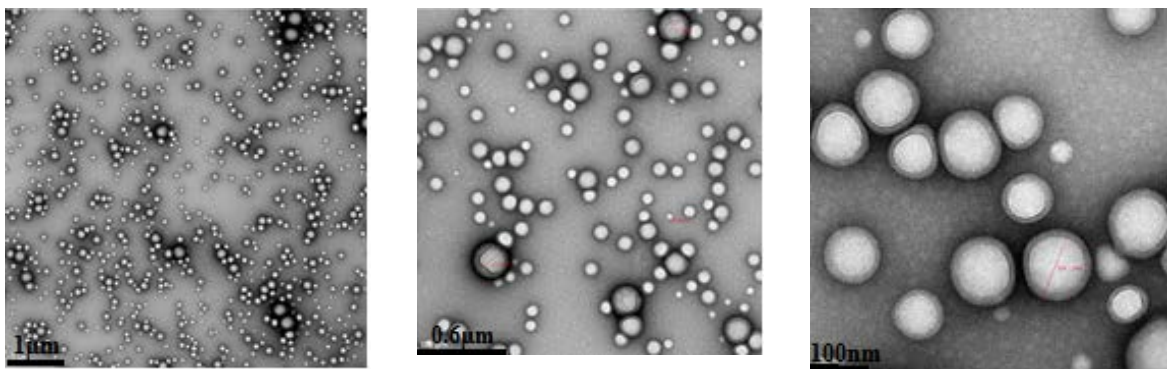


Figure VI.7 : Morphology of nanoparticles in the case of 0.1 g/L of Q at different magnification

3.1.3. Effect of PLGA 75/25 concentration on aggregation phenomena

The effect of PLGA concentration on the organization of the system PLGA/Q/PVA/water was evaluated using 0.5 g/L of quercetin and 0.5% of PVA in water.

Three MesoDyn simulations were conducted with different PLGA concentrations equal respectively to 1 g/L, 2 g/L and 10 g/L. The phase separation between the different beads in the system was described by the order parameter P . An increase in P was observed with the increase of the PLGA concentration which indicates a phase separation. Also the amount of required time steps to observe the beginning of phase separation decreased with the increase of PLGA concentration (Table VI.4.). The aggregation between Q and PLGA is observed and the phase separation particularly with water was highlighted (Figure VI.8.). The follow-up of phase separation over time illustrates that higher is the concentration of PLGA higher is the aggregates quantity.

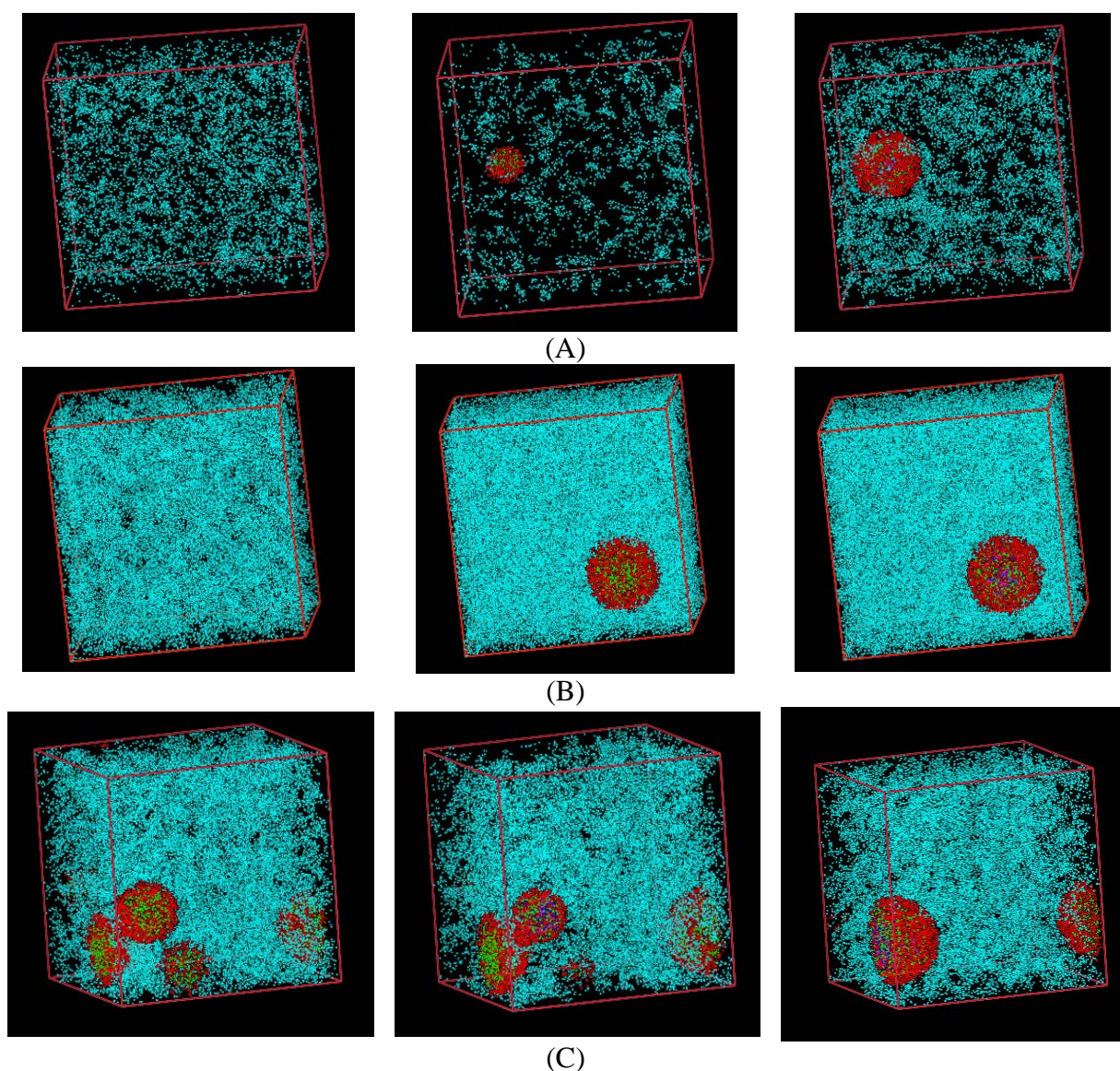


Figure VI.8 : Phase separation over time with different PLGA75/25 concentrations (A) 1g/L (at 80000, 95000 and 100000 simulation step respectively) (B) 2 g/L (at 0, 7000 and 100000 simulation step respectively) and (C) 10 g/L (at 1000, 4000 and 100000 simulation step respectively) with 0.5g/L of Q and 0.5% PVA

Table VI.4 : Order parameter and time step of the beginning of separation at different PLGA 75/25 concentrations

PLGA 75/25 (g/L)	Time step	order parameter
1	90000	0.007
2	5000	0.01
10	1000	0.018

For the experimental validation, Figure VI.9 shows that the mean diameter of nanoparticles of PLGA-Q increased significantly with the increase of PLGA. The TEM observations (Figure VI.10) showed spherical particles for the three different concentrations like seen in Figure

VI.7. The size of particles has increased from 206.8 ± 1.3 nm with 1 g/L of PLGA to 236.9 ± 1.4 nm with 10 g/L of PLGA. This result can be explained by the increase of the viscosity in the organic medium proportionally to PLGA concentration. The enhancement of the viscosity decreases the net shear stress and led to larger droplets that gave larger nanoparticles after solvent evaporation. Also, the increasing concentration of PLGA can make the PVA contained in the aqueous phase insufficient to cover all the droplets completely which leads to coalescence between droplets and aggregation between particles after solvent evaporation. In the same way, Song et al. (Song et al., 2008) found that the increase of PLGA concentration enhances the PLGA-Q nanoparticles size (Song et al., 2008).

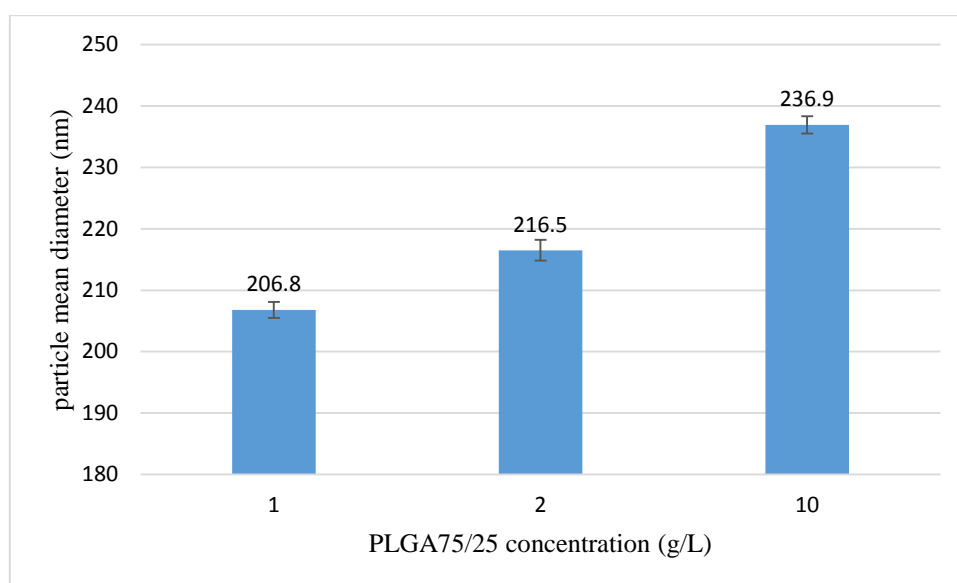


Figure VI.9 : Effect of the PLGA 75/25 concentration on the nanoparticles mean-diameter with 0.5 g/L of Q and 0.5% of PVA

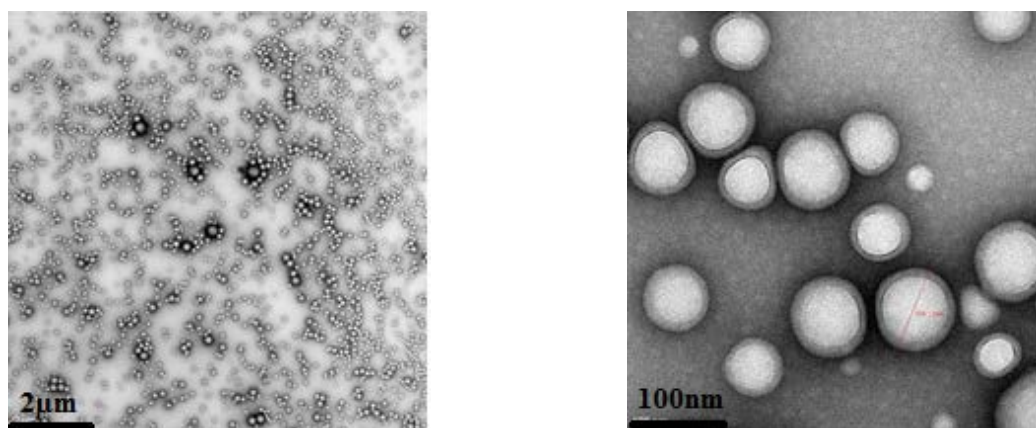
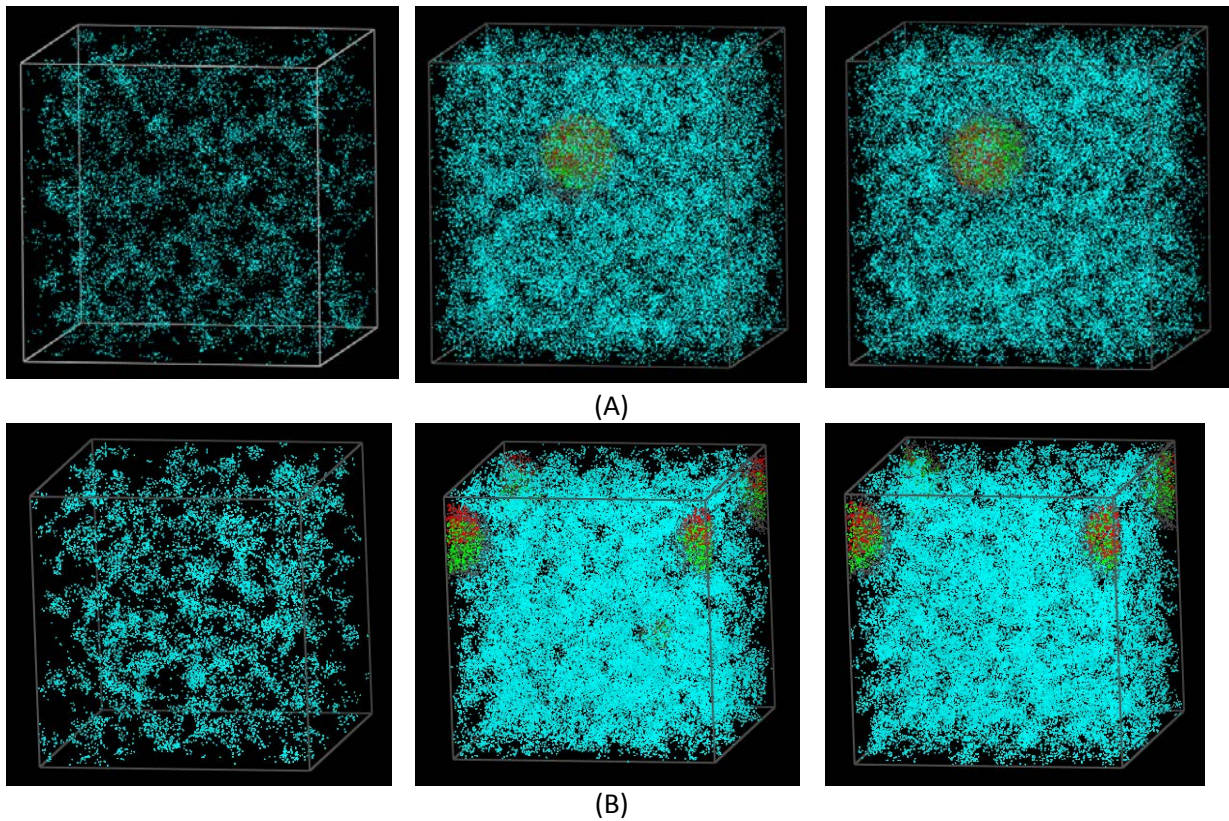


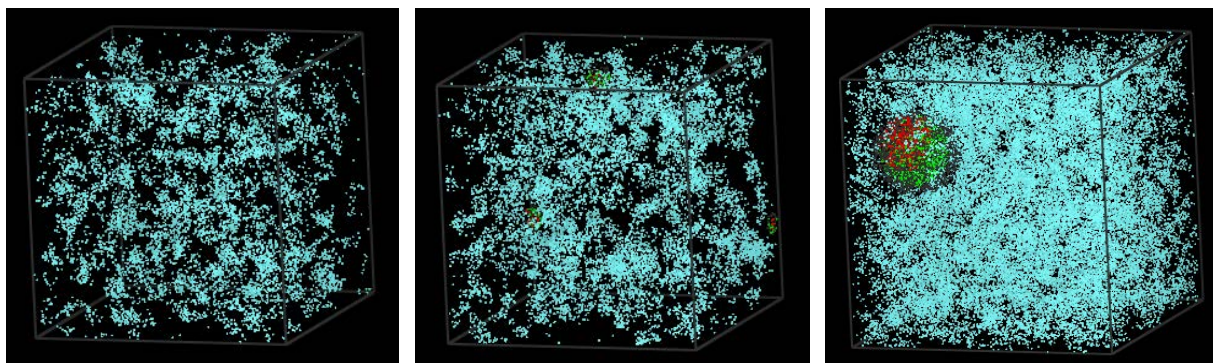
Figure VI.10 : Morphology of nanoparticles in the case of 1 g/L of PLGA 75/25 at different magnifications

3.1.4. Effect of LA: GA ratio of PLGA on aggregation phenomena

PLGA is a copolymer, it can be polymerized into many different ways based on the composition of lactic and glycolic acid monomers (Hines et Kaplan, 2013).

The influence of LA: GA ratio of PLGA on aggregation and phase separation was investigated by MesoDyn simulations and verified experimentally. The LA ratio used was 50%, 65% and 75% respectively. A series of simulations of different systems composed by PLGA/PVA in water and with the different PLGA types with and without quercetin, were conducted. All types of PLGA showed a phase separation leading thus to aggregates development. Figure VI.11 shows the behavior of phase separation of the three PLGA types nanoparticles (case of quercetin free particles). The rapidity of phase separation was proportional to the LA ratio in the copolymer. The above results are also confirmed by the behavior of the time evolution of the order parameter P of each system (0.009, 0.01 and 0.014 for 50%, 65% and 75% LA respectively). (Table VI.5).





(C)

Figure VI.11 : Phase separation over time with different PLGA nanoparticles (quercetin free) (A) PLGA75/25 (at 0, 4000 and 20000 simulation step respectively) (B) PLGA 65/35 (at 0, 6000 and 20000 simulation step respectively) and (C) PLGA 50/50 (at 0, 8000 and 20000 simulation step respectively) with 10g/L PLGA and 0.5%PVA

Table VI.5 : Order parameter and time step of the beginning of separation with different PLGA types without quercetin

PLGA	Time step	order parameter
50/50	6500	0.009
65/35	5400	0.01
75/25	3750	0.014

Experimentally under standard conditions (10 g/L of PLGA, 0.5 g/L of Q and 0.5% of PVA) the DLS results indicated that the particles size is increased slightly with the LA amount contained in the polymer. The difference between 50% and 65% LA wasn't significant but the LA effect was obvious with 75% of LA (191.1 nm, 184.2 nm, 236.9 nm for 50% LA, 65% LA and 75% LA, respectively). With particles containing only PLGA/PVA in water, nanoparticles with mean diameters of 121 nm, 128.7 nm and 138 nm were formed with 50% LA, 65% LA and 75% LA respectively (Figure VI.12). It is clear that the presence of the LA part of PLGA favors the interaction between quercetin and PLGA.

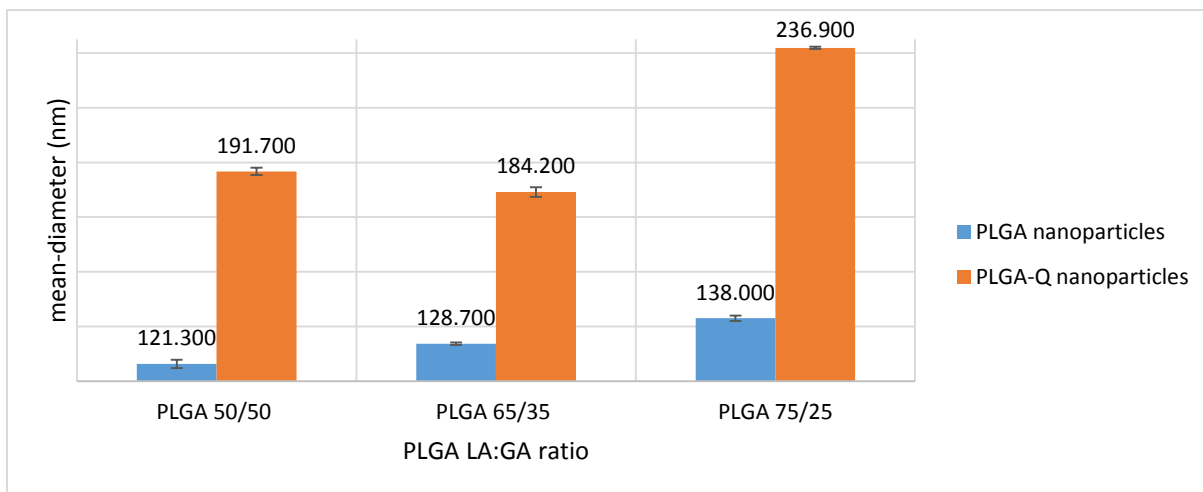


Figure VI.12 : PLGA particles and PLGA-Q loaded particles mean diameters for different PLGA types

In order to compare the behavior and the shape of particles, different PLGA types with and without quercetin were studied. MesoDyn simulations showed that PLGA nanoparticles are formed first, than quercetin is lodged inside the PLGA particle already formed (Figure VI.13). Quercetin has only a size effect on the formed nanoparticles. Experimentally, PLGA nanoparticles without quercetin present the same smooth spherical shape as for PLGA-Q nanoparticles (Figure VI.14). Pool et al. (Pool et al., 2012) observed similar spherical smooth shape for PLGA-nanoparticles without drug with SEM. Quercetin without PLGA present a rod shaped particles in water (Figure VI.14). Thus, the PLGA is the principal cause of nanoparticle shape and thus quercetin has only a size effect on the nanoparticles.

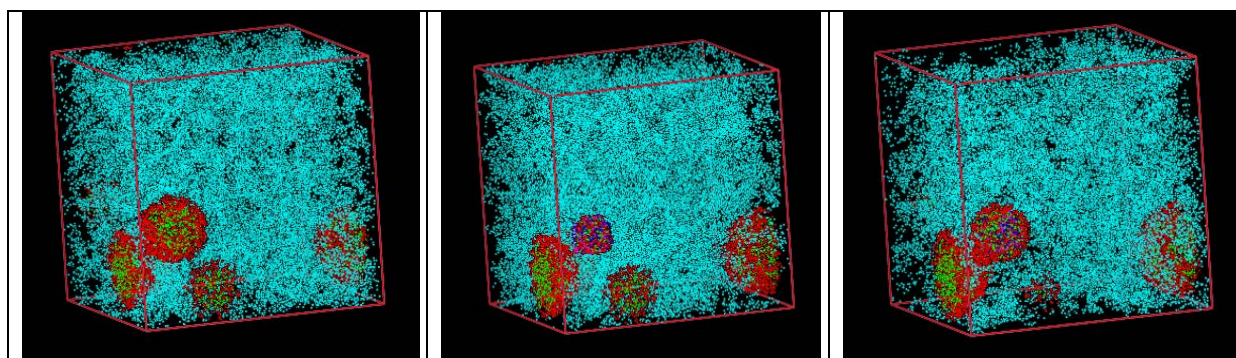


Figure VI.13 : Phase separation over time for PLGA75/25 10g/L, Q 0.5g/L and PVA 0.5% system at (1000, 3000 and 4000 simulation steps respectively)

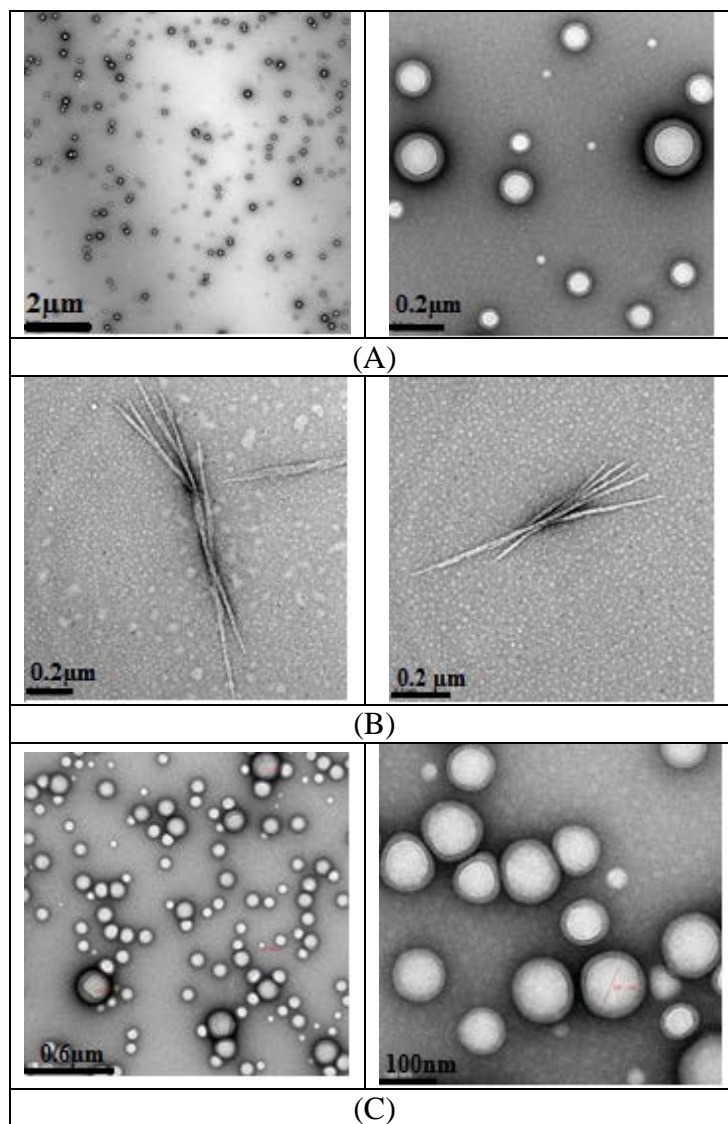


Figure VI.14 : Morphology of different nanoparticles with (A) PLGA-Quercetin free nanoparticles (B) Quercetin without PLGA and (C) PLGA – Q loaded nanoparticles

Conclusion

Mesoscale modeling (MesoDyn) was used in order to study aggregation phenomena in PLGA/PVA/Q/W system. The obtained results were compared to experimental ones. Mesoscale simulations and experimental data led to similar conclusions. The PVA concentration should not exceed 0.5% to avoid the increase of viscosity in the aqueous phase. Also, the increase of the concentration of both PLGA and Q, leads to a rapid aggregation phenomena and an increase of the particles size. But, the effect of the PLGA is more pronounced than that of quercetin. Moreover, the LA: GA ratio has a significant effect on the particle size. In fact, the higher is the LA content in the copolymer, the higher is the nanoparticle size. This behavior can be explained by the fact that the hydrophobicity of LA

favors the affinity with Q and enhances the phase separation. MesoDyn simulations showed that the system is composed in this order: B1/B2/LA/GA/PVA/W

The excellent concordance between MesoDyn simulations and the experimental results indicates that the use of MesoDyn is a reliable way to help predict the behavior of quercetin and PLGA and this methodology can be enlarged to the study of other systems.

References

1. Abe, Akihiro, and James E. Mark. 1976. "Conformational Energies and the Random-Coil Dimensions and Dipole Moments of the Polyoxides $\text{CH}_3\text{O}[(\text{CH}_2)_y\text{O}]_x\text{CH}_3$." *Journal of the American Chemical Society* 98 (21):6468–76.
2. Alvarez-Roman, R., G. Barre, R. H. Guy, and H. Fessi. 2001. "Biodegradable Polymer Nanocapsules Containing a Sunscreen Agent: Preparation and Photoprotection." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 52 (2):191–95.
3. Andersen, Hans C. 1980. "Molecular Dynamics Simulations at Constant Pressure And/Or Temperature." *The Journal of Chemical Physics* 72 (4):2384–93.
4. Barber, Michael N, and joint author.) Ninham B. W. 1970. *Random and Restricted Walks : Theory and Applications*. New York : Gordon and Breach.
5. Berendsen, H. J. C., J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola, and J. R. Haak. 1984. "Molecular Dynamics with Coupling to an External Bath." *The Journal of Chemical Physics* 81 (8):3684–90.
6. Bilati, U., E. Allemann, and E. Doelker. 2005. "Development of a Nanoprecipitation Method Intended for the Entrapment of Hydrophilic Drugs into Nanoparticles." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 24 (1):67–75.
7. Budhian, Avinash, Steven J. Siegel, and Karen I. Winey. 2007. "Haloperidol-Loaded PLGA Nanoparticles: Systematic Study of Particle Size and Drug Content." *International Journal of Pharmaceutics* 336 (2):367–75.
8. Cabezas, Leticia I., Ignacio Gracia, Antonio de Lucas, and Juan F. Rodríguez. 2014. "Novel Model for the Description of the Controlled Release of 5-Fluorouracil from PLGA and PLA Foamed Scaffolds Impregnated in Supercritical CO_2 ." *Industrial & Engineering Chemistry Research* 53 (40):15374–82.
9. Calias, P., T. Galanopoulos, M. Maxwell, A. Khayat, D. Graves, H. N. Antoniadis, and M. dAlarcao. 1996. "Synthesis of Inositol 2-Phosphate-Quercetin Conjugates." *Carbohydrate Research* 292 (October):83–90.
10. Chansuna, Mantana, Nuttaporn Pimpha, and Visit Vao-soongnern. 2014. "Mesoscale Simulation on Self-Assembling Behavior of Poly (Ethylene Oxide)-Poly (Propylene Oxide)-Poly (Ethylene Oxide) Triblock Copolymer Micelle." *Suranaree Journal of Science & Technology* 21 (3):249–57.
11. Chebil, Latifa, Mohamed Bouroukba, Claire Gaiani, Celine Charbonel, Marwa Khaldi, Jean-Marc Engasser, and Mohamed Ghoul. 2013. "Elucidation of the Kinetic Behavior of Quercetin, Isoquercitrin, and Rutin Solubility by Physicochemical and Thermodynamic Investigations." *Industrial & Engineering Chemistry Research* 52 (4):1464–70.
12. Chebil, Latifa, Christophe Chipot, Fabien Archambault, Catherine Humeau, Jean Marc Engasser, Mohamed Ghoul, and Francois Dehez. 2010. "Solubilities Inferred from the Combination of Experiment and Simulation. Case Study of Quercetin in a Variety of Solvents." *Journal of Physical Chemistry B* 114 (38):12308–13.

13. Chen, Chen, Jane Zhou, and Chunyan Ji. 2010. "Quercetin: A Potential Drug to Reverse Multidrug Resistance." *Life Sciences* 87 (11):333–38.
14. D. J. Hildebrand, R. Scott, *Solubility of Non-Electrolytes*. 3rd Ed. Reinhold, New York. 1950.
15. Dai, Xingxing, Xinyuan Shi, Yuguang Wang, and Yanjiang Qiao. 2012. "Solubilization of Saikosaponin a by Ginsenoside Ro Biosurfactant in Aqueous Solution: Mesoscopic Simulation." *Journal of Colloid and Interface Science* 384 (October):73–80.
16. Dian, Linghui, Enjiang Yu, Xiaona Chen, Xinguo Wen, Zhengzan Zhang, Lingzhen Qin, Qingqing Wang, Ge Li, and Chuanbin Wu. 2014. "Enhancing Oral Bioavailability of Quercetin Using Novel Soluplus Polymeric Micelles." *Nanoscale Research Letters* 9 (1):2406.
17. Doi, Masao, and S. F. Edwards. 1988. *The Theory of Polymer Dynamics*. Clarendon Press.
18. Fessi, H., F. Puisieux, Jp Devissaguet, N. Ammoury, and S. Benita. 1989. "Nanocapsule Formation by Interfacial Polymer Deposition Following Solvent Displacement." *International Journal of Pharmaceutics* 55 (1):R1–4.
19. Flory, Paul J. 1953. *Principles of Polymer Chemistry*. The George Fisher Baker Non-Resident Lectureship in Chemistry at Cornell University. Ithaca, NY: Cornell University Press.
20. Fraaije, Jgem, B. a. C. vanVlimmeren, N. M. Maurits, M. Postma, O. A. Evers, C. Hoffmann, P. Altevogt, and G. GoldbeckWood. 1997. "The Dynamic Mean-Field Density Functional Method and Its Application to the Mesoscopic Dynamics of Quenched Block Copolymer Melts." *Journal of Chemical Physics* 106 (10):4260–69.
21. Fraile, Marta, Rafaella Buratto, Beatriz Gómez, Ángel Martín, and María José Cocero. 2014. "Enhanced Delivery of Quercetin by Encapsulation in Poloxamers by Supercritical Antisolvent Process." *Industrial & Engineering Chemistry Research* 53 (11):4318–27..
22. Fredenberg, Susanne, Marie Wahlgren, Mats Reslow, and Anders Axelsson. 2011. "The Mechanisms of Drug Release in Poly(lactic-Co-Glycolic Acid)-Based Drug Delivery Systems--a Review." *International Journal of Pharmaceutics* 415 (1–2):34–52..
23. Galindo-Rodriguez, S., E. Allemann, H. Fessi, and E. Doelker. 2004. "Physicochemical Parameters Associated with Nanoparticle Formation in the Salting-Out, Emulsification-Diffusion, and Nanoprecipitation Methods." *Pharmaceutical Research* 21 (8):1428–39..
24. Harwood, M., B. Danielewska-Nikiel, J. F. Borzelleca, G. W. Flamm, G. M. Williams, and T. C. Lines. 2007. "A Critical Review of the Data Related to the Safety of Quercetin and Lack of Evidence of in Vivo Toxicity, Including Lack of Genotoxic/Carcinogenic Properties." *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 45 (11):2179–2205.

25. Hines, Daniel J., and David L. Kaplan. 2013. "Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) Controlled Release Systems: Experimental and Modeling Insights." *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 30 (3):257–76.
26. Hongyan, Liu, Guo Hongyu, and Zhou Jian. 2012. "Computer Simulations on the Anticancer Drug Delivery System of Docetaxel and PLGA-PEG Copolymer." *Acta Chimica Sinica* 70 (23):2445–50.
27. Jain, Amit K., Kaushik Thanki, and Sanyog Jain. 2013. "Co-Encapsulation of Tamoxifen and Quercetin in Polymeric Nanoparticles: Implications on Oral Bioavailability, Antitumor Efficacy, and Drug-Induced Toxicity." *Molecular Pharmaceutics* 10 (9):3459–74.
28. Jain, R. A. 2000. "The Manufacturing Techniques of Various Drug Loaded Biodegradable Poly(lactide-Co-Glycolide) (PLGA) Devices." *Biomaterials* 21 (23):2475–90.
29. Li, Y. M., G. Y. Xu, A. M. Chen, S. L. Yuan, and X. R. Cao. 2005. "Aggregation between Xanthan and Nonyphenyloxypropyl β -Hydroxyltrimethylammonium Bromide in Aqueous Solution: MesoDyn Simulation and Binding Isotherm Measurement." *The Journal of Physical Chemistry B* 109 (47):22290–95.
30. Makadia, Hirenkumar K., and Steven J. Siegel. 2011. "Poly Lactic-Co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier." *Polymers* 3 (3):1377–97.
31. Maurits, N. M., and JGEM Fraaije. 1997. "Application of Free Energy Expansions to Mesoscopic Dynamics of Copolymer Melts Using a Gaussian Chain Molecular Model." *Journal of Chemical Physics* 106 (16):6730–43.
32. Mu, Dan, Jian-Quan Li, and Sheng-Yu Feng. 2013. "MesoDyn Simulation Study on the Phase Morphologies of Miktoarm PEO-B-PMMA Copolymer Doped by Nanoparticles." *Molecular Physics* 111 (5):687–95.
33. Nandi, A., D. V. Khakhar, and A. Mehra. 2001. "Coalescence in Surfactant-Stabilized Emulsions Subjected to Shear Flow." *Langmuir* 17 (9):2647–55.
34. Otto, Daniel P., Anja Otto, and Melgardt M. de Villiers. 2013. "Experimental and Mesoscale Computational Dynamics Studies of the Relationship between Solubility and Release of Quercetin from PEG Solid Dispersions." *International Journal of Pharmaceutics* 456 (2):282–92.
35. Perugini, P., S. Simeoni, S. Scalia, I. Genta, T. Modena, B. Conti, and F. Pavanetto. 2002. "Effect of Nanoparticle Encapsulation on the Photostability of the Sunscreen Agent, 2-Ethylhexyl-P-Methoxycinnamate." *International Journal of Pharmaceutics* 246 (1–2):37–45..
36. Pool, Hector, David Quintanar, Juan de Dios Figueroa, Camila Marinho Mano, Etelvino J. H. Bechara, Luis A. Godinez, and Sandra Mendoza. 2012. "Antioxidant Effects of Quercetin and Catechin Encapsulated into PLGA Nanoparticles." *Journal of Nanomaterials*, 145380.
37. Rosenblatt, Karin M., and Heike Bunjes. 2009. "Poly(vinyl Alcohol) as Emulsifier Stabilizes Solid Triglyceride Drug Carrier Nanoparticles in the Alpha-Modification." *Molecular Pharmaceutics* 6 (1):105–20.

38. Rothwell, J. A., A. J. Day, and M. R. A. Morgan. 2005. "Experimental Determination of Octanol-Water Partition Coefficients of Quercetin and Related Flavonoids." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (11):4355–60.
39. Song, Xiangrong, Yu Zhao, Shixiang Hou, Fangyuan Xu, Rongh Zhao, Junyao He, Zheng Cai, Yuanbo Li, and Quhong Chen. 2008. "Dual Agents Loaded PLGA Nanoparticles: Systematic Study of Particle Size and Drug Entrapment Efficiency." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 69 (2):445–53.
40. Sun, H. 1998. "COMPASS: An Ab Initio Force-Field Optimized for Condensed-Phase Applications Overview with Details on Alkane and Benzene Compounds." *The Journal of Physical Chemistry B* 102 (38):7338–64.
41. Teixeira, M., M. J. Alonso, M. M. M. Pinto, and C. M. Barbosa. 2005. "Development and Characterization of PLGA Nanospheres and Nanocapsules Containing Xanthone and 3-Methoxyxanthone." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 59 (3):491–500.
42. Tesch, S., and H. Schubert. 2002. "Influence of Increasing Viscosity of the Aqueous Phase on the Short-Term Stability of Protein Stabilized Emulsions." *Journal of Food Engineering* 52 (3):305–12.
43. VanVlimmeren, B. A. C., and JGEM Fraaije. 1996. "Calculation of Noise Distribution in Mesoscopic Dynamics Models for Phase Separation of Multicomponent Complex Fluids." *Computer Physics Communications* 99 (1):21–28.
44. Vidya Priyadarsini, R., R. Senthil Murugan, S. Maitreyi, K. Ramalingam, D. Karunagaran, and S. Nagini. 2010. "The Flavonoid Quercetin Induces Cell Cycle Arrest and Mitochondria-Mediated Apoptosis in Human Cervical Cancer (HeLa) Cells through p53 Induction and NF- κ B Inhibition." *European Journal of Pharmacology* 649 (1–3):84–91.
45. Waldmann, Sarah, May Almukainzi, Nadia Araci Bou-Chacra, Gordon L. Amidon, Beom-Jin Lee, Jianfang Feng, Isadore Kanfer, et al. 2012. "Provisional Biopharmaceutical Classification of Some Common Herbs Used in Western Medicine." *Molecular Pharmaceutics* 9 (4):815–22.
46. Wang, Yan, Bo Zhi Chen, Yue Jin Liu, Zhi Min Wu, and Xin Dong Guo. 2017. "Application of Mesoscale Simulation to Explore the Aggregate Morphology of pH-Sensitive Nanoparticles Used as the Oral Drug Delivery Carriers under Different Conditions." *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* 151 (March):280–86.
47. Xu, Yihan, Chang-Soo Kim, David M. Saylor, and Donghun Koo. 2017. "Polymer Degradation and Drug Delivery in PLGA-Based Drug-polymer Applications: A Review of Experiments and Theories." *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 105 (6):1692–1716.
48. Zheng, Ling Shan, You Qiang Yang, Xin Dong Guo, Yao Sun, Yu Qian, and Li Juan Zhang. 2011. "Mesoscopic Simulations on the Aggregation Behavior of pH-Responsive Polymeric Micelles for Drug Delivery." *Journal of Colloid and Interface Science* 363 (1):114–21.

Contribution de l'article

L'effet de l'ajout d'un copolymère biodégradable et stable physiquement le PLGA à un flavonoïde aglycone, la quercétine, en milieu aqueux a été étudié. Quatre facteurs de formulation (la concentration de l'émulsifiant, la concentration du polymère, la concentration de la quercétine et la composition du polymère en AL/AG) ont été variés pour évaluer leur effet sur le système PLGA-Q.

La première partie, a porté sur l'étude des différents systèmes PLGA-Q par les outils de la modélisation moléculaire (calcul des paramètres d'interactions issus des paramètres de solubilité) et par méso-modélisation (évaluation de la séparation de phase au cours du temps et suivi du paramètre d'ordre P) afin de comprendre le comportement de la quercétine en présence du PLGA au cours du temps en fonction de la variation de différents paramètres de la formulation. La deuxième partie, était une validation expérimentale des résultats issus de la modélisation moléculaire et de la méso-modélisation par la formation des nanoparticules de PLGA – Q dans les mêmes conditions par la méthode de l'émulsion-évaporation du solvant. La taille et la morphologie des nanoparticules formées ont été caractérisées par DLS et MET.

La comparaison des résultats obtenus par modélisation moléculaire et méso-modélisation du système PLGA/Q/PVA/W aux résultats issus de l'approche expérimentale montre une parfaite concordance entre ces deux approches.

La simulation a permis de montrer que la concentration du PVA ne doit pas dépasser 0,5 % pour éviter l'effet dû à l'augmentation de la viscosité en phase aqueuse. En outre, l'augmentation de la concentration du PLGA et de la Q, a conduit à une augmentation de la taille des particules et à une séparation de phase plus rapide et plus importante. En effet, on a obtenu un paramètre d'ordre P de 0,018 et une taille de 236,9 nm pour un système composé de 10 g/L de PLGA75/25, 0,5g/L de Q et de 0,5% de PVA. L'effet de la concentration de PLGA est plus remarqué que celui de la concentration de la quercétine. De plus, le rapport AL: AG à un effet significatif sur la taille des particules. Plus le contenu du polymère en AL est important plus la taille, la séparation de phase et le paramètre d'ordre observés sont importants. Cela est dû à l'hydrophobicité de l'AL et donc à son affinité avec la Q. Il a été constaté également, que le PLGA est responsable de la forme sphérique et lisse des particules dans toutes les conditions testées. Aussi les détails du processus de la formation des agrégats ont été étudiés par MesoDyn. Cette étude approfondie a montré que la quercétine avec ses deux parties B1 et B2 vient se loger dans les particules déjà formés par le PLGA du côté de l'acide lactique. Ce qui confirme l'affinité de la quercétine et plus précisément la partie Q2 à

l'AL. Le PVA vient protéger la surface des particules pour éviter les phénomènes de coalescences et pour stabiliser les particules dans l'émulsion.

On peut donc déduire que les simulations à échelle mésoscopique sont un moyen fiable pour aider à prédire le comportement de la quercétine et du PLGA en milieu aqueux et de comprendre l'organisation du système au sein des particules. Cette approche peut être élargie à d'autres systèmes complexes et constitue un bon outil d'aide à la décision dans les étapes de formulation et de vectorisation des biomolécules.

Conclusion générale

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires très répandus dans le milieu végétal. Leurs propriétés antioxydantes et antiradicalaires font d'eux des biomolécules de choix dans différents domaines en lien avec la santé et le bien-être. Mais l'incorporation de ces molécules dans différentes formulations alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques est freinée par la faible solubilité et stabilité en milieux aqueux de certaines d'entre-elles. De nombreux auteurs se sont intéressés à la solubilité et à la stabilité des flavonoïdes et différentes méthodes (fonctionnalisation, encapsulation, cristallisation, ajout d'adjuvants, choix du solvant ...) ont été proposées pour pallier ces problèmes.

C'est dans ce cadre, que se situait le travail mené dans cette thèse. On a commencé par une compréhension des phénomènes de solubilité et du comportement des flavonoïdes dans différents solvants avant d'ajouter un polymère et de suivre le comportement du flavonoïde en fonction de la nature et la concentration du polymère. Dans cette étude, on a choisi comme flavonoïdes modèles i) la quercétine, qui est très répandue dans le règne végétal doté d'un potentiel antioxydant très important qui lui confère des effets thérapeutiques et anti-radicalaires très étudiés dans la littérature et ii) et ses deux formes glycosylées la rutine et l'isoquercétine. Ces molécules ont aussi des propriétés très intéressantes.

Après un screening de plusieurs types de polymères, notre choix c'est porté sur un copolymère biodégradable, stable, solide physiquement et très utilisé pour l'encapsulation et le contrôle de la libération des petites molécules. La phase continue du système est composée de deux familles différentes de solvants, en l'occurrence l'eau et un solvant organique.

Tout au long de ce travail, on s'est intéressé à la solubilité de flavonoïdes dans différents solvants en absence et en présence de polymères.

L'approche sélectionnée pour étudier la solubilité des flavonoïdes en présence et en absence d'adjuvants, est une approche multi-échelle utilisant différentes approches i) une modélisation moléculaire dédiée à l'obtention des paramètres de Flory Huggins qui sont des indicateurs de la miscibilité dans un mélange binaire et des données nécessaires pour réaliser des simulations par méso-modélisation, ii) une méso-modélisation pour comprendre les interactions et les affinités entre différentes perles de molécules définies en modèles gros grains par dynamique de la particule dissipative (perles de flavonoïde et perles de solvant) et les phénomènes de séparation de phase et de dispersion au cours du temps ainsi que l'organisation des agrégats

observés en cas de séparation de phase par la simulation MesoDyn basée sur la méthode MFDFT (flavonoïde – solvant et flavonoïde – polymère en milieux aqueux) iii) une validation expérimentale des résultats de la simulation moléculaire (suivi de la solubilité , formation de nanoparticules , MET, DLS ...).

Pour la première partie de ce travail, des simulations de la dynamique moléculaire utilisant le champ de force COMPASS ainsi que des simulations par la dynamique de la particule dissipative et par MesoDyn ont été utilisées pour étudier la dissolution de trois flavonoïdes (quercétine, rutine et isoquercétine) dans différents solvants organiques. Ces simulations ont confirmé les données expérimentales rapportées dans des travaux antérieurs pour comprendre la compatibilité / incompatibilité des mélanges flavonoïde / solvant. On a déduit que la partie B2 formée par un noyau benzénique (cycle B) et commune aux trois flavonoïdes est la responsable de leur comportement de solubilité dans les différents solvants testés. En effet, le paramètre de Flory Huggins calculé à 50°C pour les interactions B2-M2B2 et B2-ACN pour les trois flavonoïdes testés était de 0.67 et -3.55 respectivement, ces données indiquent une bonne miscibilité de la perle B2 dans le premier solvant et une faible miscibilité dans le deuxième. La fonction de la distribution radiale obtenue par DPD, pour les interactions intermoléculaires au sein du système quercétine / alcool ter-amylique indique également que les paires de perles B1-MB et B2-MB sont immiscibles. Pour le même système, le paramètre d'ordre P a montré une séparation de phase, expliquant ainsi les agrégats observés expérimentalement de la quercétine en présence de l'alcool tert-amylique.

Cette première partie de l'étude nous a permis de comprendre par simulation mésomoléculaire le comportement observé expérimentalement de la quercétine, la rutine et l'isoquercétine dans une large famille de solvants organiques. Pour affiner nos connaissances et développer des outils d'aide à la décision dans les étapes de formulation et de vectorisation des flavonoïdes, nous nous sommes intéressés dans une 2^{ème} partie à l'étude de l'effet de l'ajout d'un polymère aux flavonoïdes en milieu aqueux comme moyen d'amélioration de leur solubilité, stabilité et disponibilité. Quatre variables de formulation (la concentration de l'émulsifiant, la concentration du polymère, la concentration de la quercétine et la composition du polymère en AL/AG) ont été étudiées dans une large gamme de variation de concentrations. Pour chaque combinaison de ces variables, leur effet sur l'évolution et la stabilité du système PLGA-Q a été quantifié. Ainsi, dans un premier temps, l'étude des différents systèmes PLGA-Q a été effectuée par l'application des différents outils de la modélisation et de la méso-modélisation. La modélisation moléculaire nous a permis

d'accéder aux paramètres d'interactions par la méthode de la densité de l'énergie cohésive et la méso-modélisation nous a renseignés sur la séparation de phase au cours du temps et le suivi du paramètre d'ordre P. Ces informations nous ont permis de comprendre le comportement de la quercétine en présence du PLGA au cours du temps en fonction des différents paramètres de formulation.

La deuxième partie était une validation expérimentale des résultats issus de la modélisation moléculaire et de la méso-modélisation grâce à la préparation expérimentale de nanoparticules de PLGA – Q dans les mêmes conditions par une méthode simple qui est l'émulsion-évaporation du solvant. La taille et la morphologie des nanoparticules formées ont été caractérisées par DLS et MET. Les résultats expérimentaux ont validé avec une grande précision des résultats issus de différentes simulations. Après avoir varié la concentration du PVA de 0,5% à 5%, le seuil de PVA optimal a été fixé à 0,5% pour éviter l'augmentation de la viscosité en phase aqueuse. La concentration du PLGA était variée de 1g/L à 10g/L et celle de la quercétine de 0,1g/L à 2g/L. L'augmentation de la concentration du PLGA et de la Q, a conduit à une séparation de phase plus rapide et plus importante et à une augmentation de la taille des particules. En guise d'exemple, on a obtenu un paramètre d'ordre P de 0,018 et une taille de 236,9 nm pour un système composé de 10g/L de PLGA75/25, 0,5g/L de Q et de 0,5% de PVA contre un paramètre d'ordre de 0,007 et une taille de 206,8 nm pour 1g/L de PLGA 75/25 en conservant les mêmes conditions dans le mélange. Il a été démontré que l'effet du PLGA est plus important que celui de la quercétine sur la formation d'agrégats et la taille des nanoparticules. Le rapport AL: AG a également un effet significatif sur la taille des particules ainsi que les phénomènes de séparation de phase. L'importance de phénomène de séparation de phase, la valeur du paramètre d'ordre P et la taille des particules formées évoluent avec l'augmentation en acide lactique dans le système étudié. Ce comportement est dû à l'hydrophobicité de l'AL et donc son affinité accrue avec la Q. Il a été constaté également, que le PLGA est responsable de la forme sphérique et lisse des particules et que la quercétine ne joue que sur la taille des nanoparticules dans toutes les conditions testées. Aussi la formation des agrégats Q-PLGA obtenus, a été être caractérisée plus finement par MesoDyn, ce qui nous a permis de démontrer que la quercétine avec ses deux parties B1 et B2 vient se loger à l'intérieur des particules de copolymère déjà formées et plus précisément c'est l'unité Q2 de la quercétine qui interagit avec l'acide lactique du polymère.

Les simulations par dynamique moléculaire et à échelle mésoscopique sont un moyen fiable pour aider à prédire le comportement de la quercétine et du PLGA en milieu aqueux et de

comprendre d'une manière approfondie la formation des agrégats et les affinités entre différentes perles des molécules composant le système étudié.

Comme perspectives à ce travail, il sera intéressant i) d'élargir l'étude de la solubilité à d'autres flavonoïdes et d'autres solvants afin de mettre au point une méthodologie d'aide à la prédiction des interactions entre flavonoïdes et différents solvants utilisés dans la formulation ou la mise au point des systèmes réactionnels pour fonctionnaliser ces flavonoides, ii) compléter les études menées par intégration du solvant dans les systèmes étudiés au cours des simulations moléculaires et mésoscopiques. Ainsi le système devient solvant - flavonoïde - polymère et iii) continuer l'étude des interactions polymères – flavonoïdes par dynamique de la particule dissipative pour avoir plus de détails sur les affinités et les interactions entre différentes perles de nos modèles gros grains. Il est aussi possible de mener une stratégie visant à développer un outil d'aide à la décision aussi bien pour prédire la solubilité et la dispersibilité des flavonoides dans différentes préparations à utiliser dans des applications alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques.

Développement d'une approche multi-échelle pour l'étude de la solubilité des flavonoïdes et leur assemblage avec les polymères

Résumé :

Depuis quelques décennies, les flavonoïdes sont de plus en plus utilisés dans différents domaines d'applications alimentaires et non alimentaires. Cet engouement est dû principalement à leurs activités antioxydantes. Cependant, la solubilisation, la dispersion et la stabilisation de ces molécules sont variables et constituent un frein à leur utilisation. L'objectif de ce travail est de pallier cet inconvénient en visant à comprendre les interactions entre ces composés et leur milieu en absence et en présence de polymères, par une double approche expérimentale et par modélisation et mésomodélisation moléculaire. Dans un premier temps les interactions entre 3 flavonoïdes la quercétine et ses deux formes glycosylées la rutine et l'isoquercétine dans différents solvants organiques ont été étudiées. Les résultats obtenus (paramètre de Flory Huggins et fonction de la distribution radiale) ont montré que la partie B2 commune aux trois flavonoïdes avec des valeurs de paramètres de Flory Huggins proche de 0.5 dans le M2B2 et plus importantes dans l'acétonitrile est la responsable du comportement des flavonoïdes dans le solvant. Les simulations par DDFT ont montré une agrégation de la quercétine dans le M2B2 contre une dispersion dans l'acétonitrile. Toutes ces observations ont été validées expérimentalement (étude de la solubilité et observations microscopiques). Dans un deuxième temps on a étudié la quercétine en présence d'un biopolymère le PLGA dans l'eau. Des nanoparticules ont été formées en variant la concentration des différents composés et le ratio acide lactique / acide glycolique du PLGA. Les méthodes de la modélisation moléculaire et de la mésomodélisation (calcul du paramètre de solubilité par dynamique moléculaire et observation de la dispersion ou de la séparation de phase par DDFT) ainsi que l'approche expérimentale (DSC, MET ...) nous ont menées à la même constatation. En effet la taille des particules augmente avec la concentration du PLGA et le taux d'acide lactique dans le polymère. Aussi la concentration de l'émulsifiant dans le milieu joue un rôle important dans la formation d'agrégats PLGA-Q. Plus sa concentration est importante, plus la formation des particules est difficile comme il joue un rôle sur la viscosité du milieu et par conséquent la diffusivité des molécules dans l'eau. Tous les résultats obtenus par modélisation moléculaire et par mésomodélisation ont été validés expérimentalement. On peut donc conclure que la méthodologie adoptée en simulation peut constituer un outil d'aide à la prédiction du comportement des flavonoïdes.

Mots clés : Flavonoïdes ; polymères ; approche multi-échelle ; mésomodélisation ; DPD ; MesoDyn

Development of a multi-scale approach to study flavonoids solubility and their assembly with polymers

Abstract:

Over the past few decades, flavonoids have become increasingly used in different food and non-food applications due to their important antioxidant activities. However, the solubilization, dispersion and stabilization of these molecules are variable and constitute a brake on their use in different formulations. The objective of this work is to overcome those limitations by understanding the interactions between these compounds and their environment without and with the add of polymers, by a multi-scale approach approach (molecular modeling and mesoscale modeling and experimental study). Initially, interactions between 3 flavonoids (quercetin, rutin and isoquercetin) in various organic solvents, were studied. The obtained results (mainly Flory Huggins parameter and radial distribution function RDF) showed that the B2 part common to the three flavonoids (For example Flory Huggins parameter values were close to 0.5 in the M2B2 and much more important in acetonitrile) is responsible for the miscibility behavior of the flavonoids in the solvent. DDFT simulations showed aggregation of quercetin in M2B2 against dispersion in acetonitrile. All these observations were confirmed experimentally (study of solubility and microscopic observations). Then, quercetin was studied in the presence of a biopolymer, PLGA in water. Nanoparticles were formed by varying the concentration of the various compounds and the lactic acid / glycolic acid ratio in the PLGA. The tools of molecular modeling and mesoscale modeling (calculation of the solubility parameter by molecular dynamics and observation of the dispersion or the phase separation by DDFT) as well as the experimental approach (DSC, MET ...) led us to the same conclusions. Indeed, the particle size increases with the concentration of PLGA and the rate of lactic acid in the polymer. Also the concentration of the emulsifier in the medium has an important role in the formation of PLGA-Q aggregates. The higher its concentration, the more difficult the formation of the particles as it affects the viscosity of the medium and consequently the diffusivity of the molecules in the water. All the results obtained by molecular modeling and by mesoscale modeling have been confirmed experimentally. We can therefore conclude that the methodology adopted in the simulations can be considered as a tool to help on predicting the behavior of flavonoids in different medium.

Key words : flavonoids; polymers; multiscale approach ; mesoscale modeling; DPD; MesoDyn

