

Dosage en ligne d'une molécule d'origine naturelle dans le CO₂ supercritique à l'aide d'une cellule à haute pression équipée de fibres optiques couplant un spectrophotomètre IRTF à un extracteur à fluide supercritique

Eric, ZIEMONS¹, Eric, ROZET¹, Robert, LEJEUNE¹, Luc, ANGENOT², Philippe, HUBERT¹

¹ Laboratoire de Chimie Analytique, Département de Pharmacie, ² Laboratoire de Pharmacognosie, Département de Pharmacie, Université de Liège, Avenue de l'Hôpital 1, C.H.U., Tour 4, Bâtiment B36, 4000 Liège, Belgique

Les techniques de préparation d'échantillons demeurent parfois assez rudimentaires dans le cas de matrices solides. Parmi les différentes techniques, l'extraction par le dioxyde de carbone supercritique se présente de plus en plus comme une alternative aux procédés classiques d'extraction liquide-solide qui possèdent un certain nombre d'inconvénients tant au niveau de la toxicité des solvants que de la pollution de l'environnement et de la durée. De plus l'extraction par fluide supercritique offre la possibilité de couplage à de nombreux systèmes de détection permettant ainsi l'analyse en ligne du processus d'extraction de molécules cibles présentes dans le fluide supercritique.

Récemment, le concept « Process and Analytical Technology », défini comme un système permettant de comprendre, d'analyser et de contrôler le procédé par l'analyse non destructive et en temps réel de ses différents paramètres, tend à s'imposer dans le domaine pharmaceutique et est tout au moins promu par l'administration américaine de contrôle des aliments et des médicaments (FDA) [1].

C'est dans ce contexte que nous avons travaillé sur le développement, l'optimisation et la validation d'une méthode de dosage en ligne d'une molécule cible par la spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier dans le CO₂ supercritique après passage de celui-ci au travers d'une cartouche d'extraction contenant la matrice végétale. Le développement de l'interfaçage a été réalisé à l'aide de fibres optiques en chalcogène d'arsenic entre un extracteur à fluide supercritique et un spectrophotomètre IRTF.

De récentes publications concernant *Tithonia diversifolia*, plante d'origine tropicale, ont démontré l'activité anti-inflammatoire, anticancéreuse et anti-malarique de la tagitinine C [2-3]. Cette substance, appartenant à la famille des lactones sesquiterpéniques, a été choisie comme molécule cible.

A l'aide de cet outil original, le processus d'extraction de la molécule cible a pu être étudié de manière approfondie et en temps réel en fonction des caractéristiques physico-chimiques du fluide supercritique et de la durée de l'extraction. L'utilisation de la vibration d'élongation CH comme marqueur a permis de mettre en évidence l'obtention d'extraits de composition variable qui pourront être utilisés directement dans des études d'efficacité thérapeutique.

Finalement, la méthode d'extraction et de dosage en ligne de la tagitinine C a été validée avec succès selon la nouvelle approche faisant appel aux profils d'exactitude et ce dans un intervalle de dosage allant de 500 à 2500 µg.

[1] FDA et coll., Guidance for industry: PAT - A framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing and quality assurance. 2004

[2] Goffin E. et coll. In vitro antiplasmodial activity of *Tithonia diversifolia* and identification of its main active constituent: tagitinin C. *Planta Med.* 2002; 68 (1-2): 541-543.

[3] Jian-Qiao J. et coll. Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with potential cancer chemopreventive activity. *J. Nat. Prod.* 2002; 65 (4): 532-536.