

## Production eco-responsable de fibres cristallines pures de (E)-(R)-4-thujanol. Résolution de l'édifice cristallin en forme de spirale.

### INNOVATIONS

Le LAHN (Laboratoire d'Analyse des Huiles Naturelles, ANASCAN sarl) développe depuis 3 ans avec Anne-Julie Dixon (agricultrice), une production abondante (par kg) d'un arôme de thym: le (E)-(R)-4-thujanol (figure 1). On le nomme aussi: *trans*-4-thujanol ou *trans*-4-sabinène hydrate. Le (E)-(R)-4-thujanol est une molécule monoterpénique bioactive.

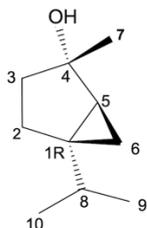


Fig. 1. Structure moléculaire du (E)-(R)-4-thujanol.

Les innovations présentées ci-après s'articulent autour de trois axes :

1-L'isolation et la mise en culture d'un écotype de thym sauvage (figure 2) qui produit le (E)-(R)-4-thujanol en abondance.



Fig. 2. Culture du thym (écotype sélectionné). Exploitation de Julien Bourjac.

2-Le développement d'un procédé d'extraction qui permet d'obtenir le (E)-(R)-4-thujanol sous forme solide.

3-Un procédé de purification de la forme solide compacte (ou cristal brut) en fibres cristallines (ou cristal de (E)-(R)-4-thujanol pure).

Afin de respecter les exigences environnementales, ces procédés d'extraction et de purification, n'utilisent pas de solvant et sont écologiquement vertueux. Une partie de la production du cristal est déjà labellisée par Ecocert.

Jusqu'à présent, le (E)-(R)-4-thujanol produit par synthèse chimique avait un prix très élevé (≈ 38 000 € le kg chez Sigma-Aldrich). De fait, bien que le (E)-(R)-4-thujanol soit un principe actif, ses applications agronomiques ou thérapeutiques sont inexistantes en dehors des laboratoires de recherche.

Grâce à la production innovante du cristal naturel de (E)-(R)-4-thujanol à partir du thym, la molécule va pouvoir être produite à un coût plus compétitif, ce qui va ouvrir de nouvelles opportunités de recherche et d'application.

### AROME NATUREL

Le (E)-(R)-4-thujanol (ou *trans*-4-thujanol) est un arôme alimentaire avec un délicieux goût de thym. L'industrie agro-alimentaire utilise certaines huiles essentielles comme la marjolaine ou le thym, contenant du 4-thujanol (mélange des formes *cis*- et *trans*-) comme aromatisants. Cependant du fait de son absence dans les catalogues comme molécules aromatiques, il s'échange dans le monde chaque année, moins de 100 kg d'équivalent pure de 4-thujanol. Ce qui est très peu au regard d'autres substances aromatiques qui s'échangent à la tonne.

L'analyse organoleptique du cristal brut de thym (figure 3) se révèle en trois phase. 1. Un arôme de tête rafraichissant rappelant la menthe. 2. Un crescendo chaud d'épice florale et herbacé de thym qui monte au palais durant quelques secondes. 3. Un retour à un parfum de fraîcheur qui s'évanouit lentement.



Fig. 3. Cristal brut de (E)-(R)-4-thujanol.

Une tête d'épingle (≈ 3 mg) de cristal brut déposées sur la langue suffit pour envahir le palais de ses arômes. Il s'agit donc d'une force en saveur exceptionnellement puissante.

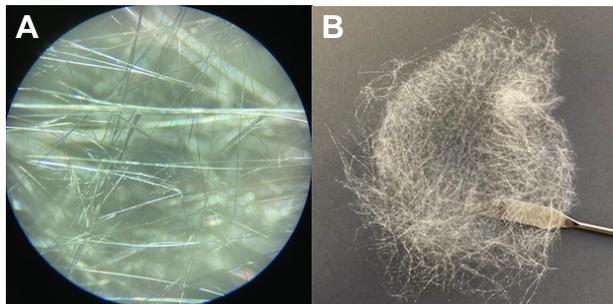
La valeur nutritive du cristal est de zéro. Tableau ci-dessous.

Valeur nutritive	Cristal de thym
Eau	0
Protéines	0
Glucides	0
Fibres alimentaires	0
Lipide	0
Sodium	0

Claude-Emmanuel Robin (Evolugout SARL), chef étoilé au Michelin, passionné par la cuisine moléculaire, très enthousiaste à la découverte de ce cristal, travaille déjà aux développements de nouveaux produits avec de nouvelles saveurs.

## EDIFICE CRISTALLIN

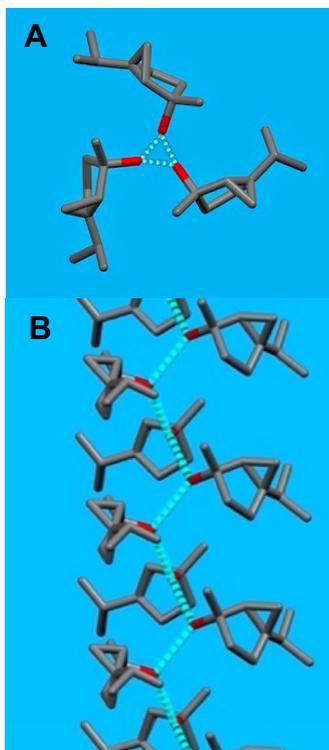
La forme la plus pure du cristal de (*E*)-(*R*)-4-thujanol prends une apparence fibreuse qui apparaît à l'œil nu comme du coton (Figure 4).



**Fig. 4. Fibres cristallines de (*E*)-(*R*)-4-thujanol.** A. Observation à la binoculaire (gauche). B. Observation à l'œil nu (droite).

L'équipe d'Erick J. Dufourc (chercheur émérite), à l'Institut Européen de Chimie et de Biologie de Pessac (IECB CNRS UAR3033) a résolu la structure moléculaire de l'édifice cristallin, par RMN et diffraction des rayons X.

La structure cristalline est remarquable. En effet il était inattendu qu'une molécule avec une structure aussi simple, puisse construire des fibres cristallines (figure 4). Plus précisément, le (*E*)-(*R*)-4-thujanol s'organise en trimère (figure 5A) qui se superpose indéfiniment sur lui-même avec un léger angle, constituant une hélice chirale de type *P* (figure 5B). Au cœur de la structure, les fonctions alcools sont reliées entre elles par des liaisons hydrogènes.



**Fig. 5. Modèles moléculaires du cristal de (*E*)-(*R*)-4-thujanol.** A. Trimère de (*E*)-(*R*)-4-thujanol. B. Superposition des trimères en structure fibreuse (droite). Rouge : fonction alcool. Cyan: liaison hydrogène. Gris: squelette carboné.

La structure fibreuse du cristal ouvre de nouvelles opportunités de recherche : par exemple la confection de textile bioactif qui

pourrait avoir des propriétés antiseptiques et s'ajouter à des pansements cicatrisants.

Il serait aussi intéressant de tester dans l'avenir si cette microfibre naturelle peut conduire l'électricité ou avoir des propriétés de semi-conducteur.

## PROPRIETES BIOACTIVES

Le (*E*)-(*R*)-4-thujanol est une molécule avec diverses propriétés physiologiques déjà connues: attracteur pollinique (activateur des antennes des abeilles), repousseurs d'insectes (femelles de scolytes). La production de (*E*)-(*R*)-4-thujanol pure et naturel en abondance, est susceptible de stimuler la recherche sur ses fonctions physiologiques et de soutenir des utilisations dans la nature ou en culture.

Enfin le (*E*)-(*R*)-4-thujanol est désormais à l'étude dans un laboratoire de biophysique des médicaments, pour ses propriétés proches du menthol.

## STABILITE

Sur le plan de la stabilité, le (*E*)-(*R*)-4-thujanol est une structure inerte (sauf à des pH alcalins extrêmes >12). Le (*E*)-(*R*)-4-thujanol ne porte pas d'insaturation qui pourrait être à l'origine de la formation d'hydro-péroxyde. Il ne peut donc pas être modifié par la présence d'oxygène moléculaire. La fonction alcool, portée par un carbone tertiaire, ne peut pas être oxydée. Tout ceci constitue un atout précieux pour son utilisation, le maintien de ses propriétés actives dans le temps et pour son stockage. Enfin, le cristal pure de (*E*)-(*R*)-4-thujanol a une température de fusion de 60 °C.

## PUBLICATION SCIENTIFIQUE

Ces innovations majeures dans le domaine de la production d'arôme naturelle, pure, sous forme cristalline et répondant aux critères de l'industrie renouvelable parait en août 2022 dans *Industrial Crops & Products* de la maison de presse Elsevier sous le titre: **Natural crystalline fibers of (*E*)-(*R*)-4-thujanol: green kilogram production from a selected wild thyme. X-ray and NMR characterization of a spiral structure.**

## CONTACTS

Denis Rontein: [contact@lahn.bio](mailto:contact@lahn.bio)

