

l'actualité chimique

Mensuel - Octobre-Novembre 2012 - N° 367-368

Toxicologie environnementale et humaine

*Tout est poison,
et rien n'est sans poison ;
c'est la dose qui fait le poison.*

Paracelse (1493-1541)



Société Chimique de France



Fondation Internationale
de la Maison de la Chimie



MOSU DOCTOR

PARESELVS

Laboratory of Condensed Matter Chemistry of Paris LCMCP

The Laboratory of Condensed Matter Chemistry of Paris (LCMCP) is a recognized actor in the field of advanced materials and nanostructures. It covers all important domains of materials chemistry, from molecular (bottom-up) to solid state (top-down) approaches. One of its world-recognized specialties is bio-inspired soft-chemical syntheses without heating to extreme temperatures. These "sol-gel" process strategies are based on Mother Nature: think of diatoms —single-celled phytoplankton— beautiful functional structures that can create, at room temperature, a shell of silica-based glass for protection, equipped with "holes" whose size ranges from nano- to macro-scale for efficient exchange with their environment for light and food.

The LCMCP focuses on high-impact technology, especially the synthesis of new solid phases, inorganic nanomaterials, inorganic/organic hybrids, biominerals with original morphologies and hierarchical nano-/meso-/macro-structures. These materials have a strong societal impact and are particularly used for catalysis, biomedicine, energy harnessing and information technology.

JOINTLY HELD RESEARCH

The LCMCP (UMR 7574) is a joint UPMC/CNRS/Collège de France research unit in three locations: UPMC (the Jussieu site), the Collège de France and Chimie-ParisTech. The LCMCP is currently headed by Clément Sanchez, Professor at the Collège de France.

SCIENTIFIC PARTNERSHIPS

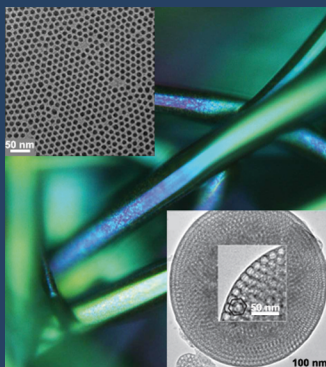
The LCMCP is involved in various programs with national and international collaborations, including ANR and European programs.

INDUSTRIAL PARTNERSHIPS

IFP, Alcatel CIT, Solvay-Rhodia, Saint-Gobain, EADS, CEA, Total, EDF, CNES, IRSN, SOPRA, Essilor, CETH, ST Microelectronics, Air Liquide, L'Oréal, ArcelorMittal, Draka, SAFT, CHRYSO, IFTH, PSA, Kodak-Trophy and others. The LCMCP can provide on-demand the expertise of its members (ATF service – Sol-Gel Way process) for specific syntheses, characterizations, and interpretation of experimental data.

RESEARCH TEAMS

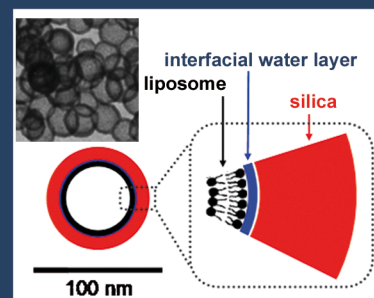
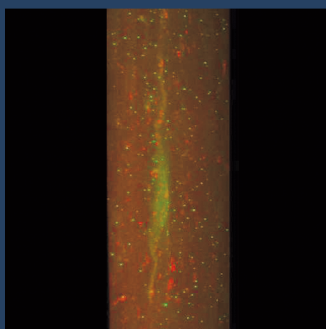
Based on solid foundations for the characterization of materials by modern techniques operating *ex situ* and *in situ* (such as Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Electron Paramagnetic Resonance (EPR), X-ray scattering, electron microscopy and ellipsoporosimetry), the LCMCP staff of more than 100 people covers a wide range of materials developed in five research teams.



HYBRID MATERIALS AND NANOMATERIALS.

Producing original hybrid and inorganic materials as well as nanomaterials with hierarchical ordering as innovative responses to social concerns about environment, energy and medicine.

SOL-GEL MATERIALS AND NMR.
Developing specific NMR techniques for assessing the structure and formation mechanisms of innovative materials originating from condensed molecular scale building-blocks.

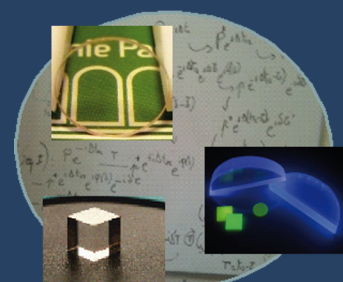
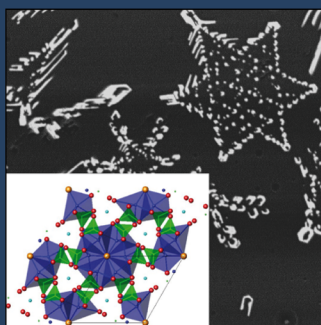


MATERIALS AND BIOLOGY.

Designing novel "living" materials by combining biological functions and organic, hybrid or inorganic components.

MATERIALS FOR PHOTONICS.

Creating materials for bio-imaging, lasers and quantum information.



COMPLEX INORGANIC MATERIALS.

Creating and studying special glasses, ceramics and single crystals, especially destined for energy applications downstream in the nuclear cycle and for information storage through spin manipulation.

FOR MORE INFORMATION

Director
SANCHEZ Clément
01 44 27 15 01
clement.sanchez@upmc.fr
ATF service – Sol-Gel Way
GROSSO David
01 44 27 15 30
david.grosso@upmc.fr

Communications
MAILLOT Patricia
01 44 27 15 08
patricia.maillot@upmc.fr

Postal and Physical Address
Collège de France,
Bat. C-D
11 place Marcelin Berthelot
75231 Paris Cedex 05
Website
<http://www.labos.upmc.fr/lcmcp/newsite/>

RÉDACTION

Rédacteur en chef : Paul Rigny

Rédactrice en chef adjointe :

Séverine Bléneau-Serdel

Secrétaire de rédaction : Roselyne Messal

Chef de rubrique, Collection « L'Actualité Chimique - Livres » : Minh-Thu Dinh-Audouin

Secrétariat : Martine Maman

Webmestre : Jérémie Meyer de Ville

http://www.etage-13.com

Comité des rubriques :

Recherche et développement : Paul Rigny, Industrie : Gilbert Schorsch, Enseignement et formation : Katia Fajerberg, TP : Xavier Bataille et Nicolas Cheymol, Histoire de la chimie : Marika Blondel-Mégrelis, Comment ça marche ? : Véronique Nardello-Rataj, Un point sur : Jean-Pierre Foulon, Chimie des aliments et du goût : Hervé This, À propos de : Bernard Sillion, En bref : Séverine Bléneau-Serdel, Roselyne Messal, Actualités de la SCF et Agenda : Roselyne Messal, Livres et médias : Yves Dubosc

Comité de rédaction :

P. Arpino, H. Belhadj-Tahar, J. Belloni, E. Bordes-Richard, J. Buendia, N. Capron-Joubert, C. Cartier dit Moulin, C. Cordella, J.-C. Daniel, R.-E. Eastes, J. Fournier, F. Lafuma, J.-F. Lambert, V. Lucas, M.-T. Ménager, N. Moreau, A. Ouali, J.-M. Paris, P. Pichat, A. Picot, M. Quarton, F. Rocquet, E. Soulié, H. Toulhoat, M. Verdaguer, P. Vermeulin, D. von Euw

Partenariat : CNRS, Fondation Internationale de la Maison de la Chimie

Publication analysée ou indexée par :

Chemical Abstracts, base de données PASCAL

ÉDITION : Société Chimique de France

250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris

Rédaction : 28 rue Saint-Dominique, 75007 Paris

Tél. : 01 40 46 71 64 - Fax : 01 40 46 71 63

redaction@lactualitechimique.org

http://www.lactualitechimique.org

Directeur de la publication : Olivier Homolle,

président de la Société Chimique de France

Imprimerie : SPEI, BP 26, 54425 Pulnoy

Maquette articles : e-Press, Casablanca Technopark, Route de Nouaceur, Casablanca (Maroc)

Maquette hors articles : Mag Design

http://www.magdesign.info

ISSN version papier 0151 9093

ISSN version électronique 2105 2409

PUBLICITÉ

EDIF, Le Clemenceau, 102 avenue Georges

Clemenceau, 94700 Maisons-Alfort

Tél. : 01 43 53 64 00 - Fax : 01 43 53 48 00

edition@edif.fr, http://www.edif.fr

Index des annonceurs : p. 3

© SCF 2012 - Tous droits réservés

Dépôt légal : octobre 2012

Toute représentation ou reproduction, intégrale ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur, ou des ayants droits, ou ayant cause, est illicite (loi du 11 mars 1957, alinéa 1^{er} de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal. La loi du 11 mars 1957 n'autorise, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, que les copies et les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective d'une part, et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration.

TARIFS 2012 - L'ACTUALITÉ CHIMIQUE

(11 numéros par an)

Abonnement papier + électronique

Particuliers : France 95 € - Étranger 100 €

Institutions : France 195 € - Étranger 205 €

Lycées : France 110 € - Étranger 130 €

Abonnement électronique seul (France/Étranger)

Particuliers : 55 € - **Institutions :** 155 € - **Lycées :** 70 €

Membres de la SCF (hors membres associés) :

abonnement inclus dans la cotisation

Abonnement : SCF, Nadine Colliot

250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris

Tél. : 01 40 46 71 66 - Fax : 01 40 46 71 61

adhesion@societechimiquedefrance.fr

Prix de vente au numéro : 32 € (port inclus)



La toxicologie : un domaine scientifique à part entière

Enviés (secrètement) mais craints, ce sont les empoisonneurs de la Renaissance, leur capacité à maîtriser leurs redoutables substances. Honnies et abhorrées, ce sont les épidémies alimentaires (le « mal des ardents » et l'ergot du seigle) ou environnementales (l'eau pestiférée de Londres au XVII^e siècle). La société veut se protéger des poisons. Loin de ces époques reculées où on invoquait vite des causes surnaturelles, le XX^e siècle a inventé le traitement des peurs et des risques par « la norme » – vertu du chiffre censé apporter la certitude.

D'abord rassurantes, les normes déclenchent vite des questions : qui les établit ? Sur quelles bases ? On dresse alors les « fiches de toxicité » associées aux substances chimiques, qui ont longtemps servi de réponse mais n'ont pas éteint le débat : sont-elles fiables ? Sont-elles rendues publiques ? Sont-elles complètes ? Le citoyen veut mieux comprendre : il faut creuser. Les laboratoires se mettent en marche et développent les concepts de base (expologie, spéciation, marqueurs...) qui soutiennent l'actif dialogue avec la société, toujours plus sensible aux risques que la vie quotidienne lui fait encourir. Une science d'abord confidentielle se développe et s'épanouit : la toxicologie ! Mais le public reste en marge, il faut aller plus loin. Le XXI^e siècle invente ensuite la réglementation européenne REACH (mise en œuvre en 2007) qui demande que le vendeur s'engage personnellement, qu'il garantisse la non-toxicité de son produit.

La toxicologie prend alors une extension nouvelle et devient porteuse de tous les espoirs ; une panoplie de tests et de protocoles ne suffit plus, il faut des bases rationnelles – découvrir le rôle de la structure moléculaire, débusquer la synergie entre les facteurs (conditions d'exposition, « effet cocktail », paramètres personnels...), se mettre en mesure de devenir « prédictif ». De l'expérience et de l'étude naissent de nouvelles perspectives. Comme le montre Daniel Mansuy dans ce numéro, la toxicologie gagne ses lettres de noblesse et réalise aujourd'hui qu'elle n'est autre qu'une science de la réponse du vivant aux stimulants moléculaires ; elle s'apparente à la pharmacologie et plus généralement à « l'interface chimie-biologie » qui a conquis tant de domaines des sciences de la vie. Ce mouvement scientifique, né de la constatation de la toxicité des molécules, n'est pas prêt de prendre fin ; l'intrigante

question – insoluble, dirait-on – de la toxicité des faibles doses ou l'apparition de nouveaux « objets chimiques » comme les nanoparticules sont par exemple là pour le garantir.

Le cadre scientifique (conceptuel et méthodologique) développé au cours des décennies précédentes, apparaît dans sa diversité, au-delà même de sa dimension purement chimique, dans les articles réunis dans ce **numéro spécial « Toxicologie »**, dont nous remercions vivement tous les auteurs. Remerciements tout particuliers à Marie-Thérèse Ménager qui a eu l'initiative de ce numéro – il y a un certain temps déjà tant la sélection des thèmes dans un tel domaine a pu être délicate.

La naissance, le développement et la structuration d'une nouvelle branche de la recherche scientifique – puisqu'avec la toxicologie, c'est de cela qu'il s'agit – sont des opérations compliquées qui mobilisent en profondeur tout le système de la recherche – ses composantes et leurs inter-relations, ses mécanismes d'administration et de financement, sa politique de ressources humaines. Le résultat, en l'occurrence, ne met pas aujourd'hui notre pays à l'honneur puisqu'il reste toujours vrai que la toxicologie est « sous-développée » en France.

Cependant, notons que se déroulent en ce moment – de septembre à décembre – les « **Assises de l'enseignement supérieur et de la recherche** » et qu'elles veulent « **replacer [...] la science et la recherche au cœur des enjeux culturels, environnementaux et économiques de notre pays et en faire des leviers pour la croissance.** » Concrètement, cette phrase pourrait se lire : « permettre au système de répondre efficacement aux nouvelles demandes que la société adresse à la recherche scientifique. » Avec la toxicologie, nous avons un cas d'école. Puisque les grands cadres législatifs et administratifs qui constituent le « système français de recherche et d'enseignement supérieur » sont maintenant là, après sept années de trains de réformes, il faut souhaiter que les Assises sachent en faire apparaître les nécessaires simplifications, à la lumière des rigidités et des dysfonctionnements qui sont apparus. Ensuite, la mise en œuvre, travail ingrat par excellence, constituera le vrai défi.

Paul Rigny
Rédacteur en chef



Éditorial 1

La toxicologie : un domaine scientifique à part entière, par **P. Rigny** 1

Clin d'œil étymologique 5

À propos de l'amidon, par **P. Avenas** 5

Chroniques 6

Peut-on encore faire de la métallurgie en France ?, par **J.-C. Bernier** 6

Histoire de la chimie 8

Paul Sabatier, prix Nobel de chimie 1912 : un universitaire régionaliste et chercheur de talent.
Biographie et œuvre scientifique, par **A. Lattes** 8

Toxicologie environnementale et humaine 19-82

À propos de 83

Universités et grandes écoles : deux modèles complémentaires. Rencontre avec Valérie Cabuil,
directrice de l'ENSCP, par **P. Rigny** 83

La biologie de synthèse, par et pour la chimie !, par **R.A. Jacquesy** 86

L'innovation technologique : moyens et méthodes, par **P. Pichat** 88

Comment ça marche ? 90

L'éthylotest, par **L. Valade, J.-L. Pellegatta et P. Fau** 90

Recherche et développement 94

Les polysaccharides amphiphiles auto-associatifs : de la chimie à l'encapsulation de principes actifs,
par **L.N. Hassani, F. Hendra et K. Bouchemal** 94

Enseignement et formation 100

Le cercle des conformations : un moyen efficace pour comprendre la chiralité des molécules mobiles
et leur activité optique, par **V. Pellegrin** 100

Les travaux pratiques

La synthèse de la dibenzalacétone : un exemple de TP d'investigation de chimie organique, par **L. Heinrich** 108

En bref 114

Livres et médias 117

Agenda 121

Actualités de la SCF 122

Un point sur 127

Les verres biogéniques, par **J. Livage** 127



Toxicologie environnementale et humaine

19-82

Coordinatrice : Marie-Thérèse Ménager

Couverture :
Conception graphique Mag Design - www.magdesign.info.

Introduction

19

La toxicologie : la multidisciplinarité au service de la sécurité sanitaire et environnementale,
par **E. Quéméneur, E. Lemazurier et M.-T. Ménager**

19

Glossaire

24

Outils, développement de méthodes et concepts

26

La spéciation en toxicologie, par **C. Bresson, F. Chartier et E. Ansoborlo**

26

Déterminer les mécanismes moléculaires conduisant à la toxicité de l'uranium : la longue marche !,
par **C. Vidaud et A. Hagège**

34

Toxicologie humaine

38

Test alternatif pour la toxicologie de la reproduction, par **P. Durand et O. Prat**

38

Évaluation de la toxicité des nouvelles molécules médicamenteuses : principes généraux et limites actuelles,
par **F. Ballet**

41

Les faibles doses, par **F. Wallet**

48

Nanotoxicologie

51

Nanoparticules et risque humain, par **M. Carrière**

51

Exposition et impact environnemental au cours du cycle de vie des nanomatériaux commercialisés,
par **M. Auffan, P. Chaurand, C. Botta, J. Labille, A. Masion, J.-Y. Bottero et J. Rose**

59

Toxicologie, industrie et société

63

Les risques chimiques : un fort besoin de dialogue. Retours sur un cycle d'échanges à l'Université de Lyon,
par **N. Fabre**

63

L'évaluation des risques toxicologiques vue sous son angle réglementaire : un aperçu du monde mystérieux
du règlement REACH, par **J.-C. Boutonnet**

68

L'évolution des besoins des industriels en matière de toxicologie, par **J. de Gerlache et P. Isnard**

72

La toxicologie : une recherche de plus en plus multidisciplinaire et mécanistique, avec des retombées
en biologie et en chimie, par **D. Mansuy**

81

Index des annonceurs

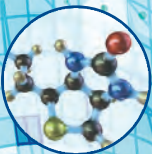
Alfa Aesar	p. 4	ICSN	p. 71
CultureSciences-Chimie	p. 80	LCMCP	2 ^e de couv.
EDIF	p. 85	Merck Serono	4 ^e de couv.
EDP Sciences	p. 18, 40	RNC	p. 37
EuCheMS	encart	SiS2M	p. 67
ICMR	p. 58	UdPPC	p. 107



Régie publicitaire : **EDIF**, Le Clemenceau, 102 avenue Georges Clemenceau, 94700 Maisons-Alfort
Tél. : 01 43 53 64 00 - Fax : 01 43 53 48 00 - edition@edif.fr - <http://www.edif.fr>

Bio

Chemicals for Life



Alfa Aesar est heureux de vous présenter le dernier complément à sa gamme incluant déjà plus de 33.000 produits.

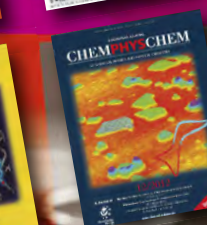
- Acides aminés et dérivés,
- Réactifs biochimiques,
- Tampons,
- Réactifs d'électrophorèse,
- Réactifs pour la transduction de signal,
- Réactifs pour Western Blot et ELISA
- ... et bien plus encore

Demandez votre catalogue aujourd' hui à www.alfa.com/bio.

www.alfa.com

Alfa Aesar®
A Johnson Matthey Company

**"Made in Europe for the World"
Oui, mais avec vos contributions !**



NOUVEAU !

Analytical and Bioanalytical Chemistry
Springer
the language of science

Les journaux de ChemPubSoc*

* ChemPubSoc regroupe 14 sociétés de chimie européennes, dont la SCF

WILEY-VCH

ChemPubSoc Europe

L'Actualité Chimique



Société Chimique de France

- Chemistry, a European Journal
- European Journal of Organic Chemistry
- European Journal of Inorganic Chemistry
- ChemBioChem
- ChemCatChem
- ChemMedChem
- ChemPhysChem
- ChemSusChem

Nouveau !
- ChemistryOPEN
- ChemPlusChem

**Pour montrer la vitalité de la chimie française,
toutes ces revues attendent vos communications**



Pierre Avenas a mené une carrière variée dans la chimie industrielle, principalement dans le domaine des polymères. En participant à la création du laboratoire de l'École des Mines de Paris à Sophia Antipolis, et par la suite en tant que directeur de la R & D d'Elf-Atochem puis de Total-Chimie, il a interagi avec un très grand nombre de nos collègues – ces sociétés étant alors celles qui passaient le plus grand nombre de contrats de recherche avec la chimie du CNRS.

Aujourd'hui retraité, il a eu l'idée de publier des livres thématiques tournant autour de l'étymologie des noms, en français et dans plusieurs langues voisines (livres co-écrits avec la linguiste Henriette

Walter). Cela nous a donné l'idée d'une approche originale pour faire valoir la chimie – un biais surprenant, ludique et très puissant : celui de l'étymologie. Il a accepté, pour L'Actualité Chimique, de raconter l'histoire de quelques noms de produits chimiques, dans un « clin d'œil étymologique » que nous retrouverons régulièrement et dont nous le remercions vivement.

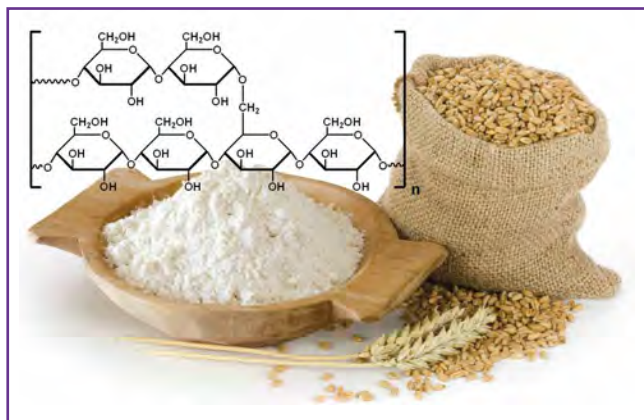
Les réactions et contributions des lecteurs sont vivement souhaitées, aussi bien à propos des noms présentés dans la rubrique, que pour y développer d'autres thèmes originaux. Prochain rendez-vous : l'ammoniac.

À propos de l'amidon

L'amidon est connu en Europe depuis l'Antiquité grecque et romaine, époque à laquelle il servait principalement à faire du pain et des gâteaux.

Faut-il une meule pour produire de l'amidon ?

Pour les Anciens, non : ils obtenaient l'amidon à partir du blé, dont les grains entiers étaient mis à macérer dans l'eau, puis pressés et séchés au soleil (*figure*). Dans ce procédé le blé n'était donc pas moulu, ce qui explique le nom du produit en grec ancien, *amulon*, formé avec le préfixe privatif *a-* et l'élément *-mulon*, dérivé de *mulê* « meule » : l'amidon était par définition le produit obtenu « sans meule », par opposition à la farine.



L'amidon, mélange de polymères (dont un enchaînement type est représenté ici), était obtenu à partir du blé dans l'Antiquité.

© Airbone 77 - Fotolia.com. Montage : M.-T. Dinh-Audouin.

Ce nom grec *amulon* devient en latin classique *amylum*, puis en latin médiéval *amidum*, où le *d* remplaçant le *l* (comme dans *moudre*, venant de l'ancien français *molde*, venant lui-même du latin *molere*) masque un peu le nom de la *meule*. En outre, l'origine étymologique du mot a dû se perdre de vue progressivement, d'autant plus que le procédé de fabrication de l'amidon évoluait, le blé étant écrasé, broyé ou même moulu avant la macération. Finalement, l'amidon de blé est produit aujourd'hui à partir de farine, ce qui est en complète contradiction avec l'étymologie du nom *amidon*. Une telle situation se rencontre avec beaucoup d'autres mots dont le sens s'est éloigné du sens initial ; par exemple : un album est à l'origine un livre blanc (*albus* en latin), mais il reste ensuite un album, même s'il n'est pas blanc.

C'est en tout cas du bas latin *amidum* que dérive le nom de l'amidon, en français comme dans les autres langues romanes : italien *amido*, espagnol *almidón* (où se voit l'influence de l'article arabe *al*)...

Un produit qui épaissit et qui rigidifie

Les noms de l'amidon en anglais (*starch*) et en allemand (*Stärke*) n'ont manifestement pas l'origine gréco-latine trouvée dans les langues romanes. Ils sont d'une origine germanique plus récente et se rattachent à la même racine indo-européenne que l'adjectif *stark*, signifiant « raide, rigide » en anglais et « fort, solide, résistant » en allemand. Cette fois, les noms sont motivés, non pas par le procédé d'obtention, mais par les propriétés d'usage de l'amidon : un épaississant ou, en dehors des usages alimentaires, un rigidifiant pour les textiles qui sont amidonnés, ou empesés.

Étonnamment, les noms de la cigogne en anglais (*stork*) et en allemand (*Storch*) se relient aussi à la même origine que l'adjectif *stark*, car cet oiseau, particulièrement gracieux en vol, se caractérise au sol par une sorte de raideur dans la démarche, comme si ses pattes étaient amidonnées. À l'instar de l'amidon, la cigogne porte des noms très différents dans les langues germaniques et dans les langues romanes : *cigogne*, italien *cigogna*, espagnol *cigüeña*, issus du latin *ciconia* (sans doute une onomatopée).

Un langage commun pour la chimie

Si le nom de l'amidon varie beaucoup d'une langue à l'autre, celui de l'*amylase*, par exemple, est très stable : *amylase* en anglais, *Amylase* en allemand, *amilasi* en italien, *amilasa* en espagnol. Même dans les langues non européennes, le nom de cette enzyme est phonétiquement voisin (en japonais, アミラーゼ se prononce à peu près comme *amylase*).

Heureusement en effet, pour désigner les noms des composés chimiques relatifs à l'amidon, la terminologie internationale revient au latin classique *amylum* en utilisant l'élément *amyl(o)-*, ou *amil(o)-*, ou l'équivalent phonétique avec d'autres alphabets.

On voit bien le rôle que jouent toujours le latin et le grec dans la communication scientifique et technique entre pays de langues différentes. À ce propos, en espéranto, l'amidon se dit *amelo*.

Pierre Avenas
(pier.avenas@orange.fr)

Peut-on encore faire de la métallurgie en France ?

La métallurgie dans notre pays a un passé somptueux marqué aux XIX^e et début du XX^e siècles par des savants métallurgistes et chimistes géniaux tels que Henri Sainte-Claire-Deville (1818-1881) qui découvrit l'aluminium, Georges Urbain (1872-1938) qui sépara les terres rares, Louis Hackspill (1880-1963) sur les métaux alcalins, Paul Héroult (1863-1914) pour la production d'aluminium par électrolyse de sels fondus, Georges Chaudron (1891-1976) qui explicita les réactions d'oxydoréduction dans le haut fourneau et bien d'autres encore. Or divers articles de presse du printemps 2012 ont médiatisé l'arrêt des hauts fourneaux du site de Florange, les inquiétudes sur la pérennité de l'aluminerie de la vallée de Saint-Jean-de-Maurienne et relancé l'idée que la métallurgie française, voire européenne, n'était plus compétitive. Pourtant, un rapport de l'Académie des sciences et de l'Académie des technologies paru en 2011 – *La métallurgie, sciences et ingénierie* – attirait déjà l'an passé l'attention des pouvoirs publics sur sa situation jugée critique [1].

Sa relecture en 2012 au moment où l'opinion se préoccupe de « la désindustrialisation massive » du pays et de la reconquête de la compétitivité est très instructive. Selon les statistiques de l'Union des industries et des métiers de la métallurgie (UIMM), l'industrie métallurgique regroupe encore 43 000 entreprises et emploie environ 1 500 000 salariés, mais en a perdu près de 780 000 en vingt ans, c'est-à-dire près du tiers par rapport à 1992, et n'occupe plus que 13 % de la population active. Alors que la production mondiale d'acier est passée de 800 à 1 350 millions de tonnes (Mt), elle est restée stable en France, de l'ordre de 18 Mt. Pour l'aluminium, la production mondiale est passée en quinze ans de 23 à 40 Mt, mais sur le plan national, elle a baissé d'environ 15 % et se situe aux alentours de 390 000 t.

La recherche universitaire a suivi la même érosion. Alors qu'au siècle passé des chercheurs et des ingénieurs remarquables avaient initié une école mondialement connue et accompagné un développement industriel brillant, les départs en retraite, la dispersion des centres scientifiques, le manque de recrutement de jeunes chercheurs et thésards à l'université et



Coulée continue dans l'ancien haut fourneau, Clabecq (Belgique). © Jean-Pol GRANDMONT.

au CNRS a conduit à des tailles critiques. Notons par exemple que les chercheurs métallurgistes dépendent au CNRS de trois commissions et de trois instituts, ce qui réduit fortement pour la discipline sa visibilité et sa place dans les priorités. Dans les organismes à vocations plus finalisées comme le CEA et l'ONERA, les effectifs de chercheurs en métallurgie ont également fondu : de près de moitié au CEA (60/120) et d'un tiers à l'ONERA (30/45). La R & D industrielle, bien qu'ayant aussi subi des saignées, reste bien présente en France. Parmi les plus importants, on peut citer le centre de recherche d'Arcelor-Mittal à Maizières-lès-Metz (ex IRSID) qui emploie près de 600 personnes et qui est le grand centre de recherche européen sur l'acier, et le centre de recherche de Rio Tinto Alcan (ex Pechiney) qui emploie près de 250 personnes à Voreppe pour l'aluminium. N'oublions pas la recherche de Stainless and Nickel Alloys (filiale d'Arcelor-Mittal, ex Imphy Alloys) qui reste le leader mondial sur l'Invar®, mais aussi Ugitech (filiale du groupe allemand Schmolz+Bickenbach) et Aubert & Duval (filiale du groupe minier et métallurgique français Eramet) sur les aciers spéciaux et Saint-Gobain PAM (ex Pont-à-Mousson), Vallourec, Metafram pour la mise en forme. Ceci représente environ 1 100 chercheurs métallurgistes avec un recrutement de l'ordre de 100 à 150 jeunes par an. Par contre, ce qui est inquiétant, c'est la

stagnation des dépenses en R & D depuis 1999 correspondant à une baisse de volume de près de 25 %. La part de la dépense intérieure de recherche et développement (DIRD) des entreprises du secteur de la métallurgie a ainsi baissé de 40 % en vingt ans, passant de 2 % à moins de 1,2 %.

Pour l'enseignement dans les universités et les écoles d'ingénieurs, la métallurgie fait partie de la spécialité « Science et génie des matériaux » (SGM), parfois noyée entre les plastiques et les composites (effet de mode ?). Pour les ingénieurs, on trouve encore de bonnes filières dans les écoles des mines, certaines ENSI du groupe Polytech et de la Fédération Gay-Lussac. Parmi les « très » grandes écoles prestigieuses, ou la science des matériaux n'a jamais existé, ou elle a disparu au profit de la finance et de la gestion. Hormis un ou deux sites en France, on ne trouve pas ce qui peut être offert à l'étranger comme au MIT (E.-U.), à Cambridge (R.-U.), EPFL (Suisse), Stuttgart ou Aachen (All.) par des institutions de haut calibre avec une communauté scientifique ayant la masse critique pour susciter des vocations de chercheurs en métallurgie parmi les meilleurs étudiants.

Alors que faire ? Le rapport des deux académies suggère de nombreuses pistes intéressantes – parfois trop académiques et pas assez économiques. Parmi elles, des programmes de recherche s'appuyant sur des réseaux

européens. En sidérurgie, ULCOS (« Ultra-low carbon dioxide steelmaking ») regroupe 48 entreprises issues de quinze pays européens afin de réduire les émissions de CO_2 lors de la production d'acier. Un budget de 60 M€ depuis 2004 a conduit à plusieurs solutions : recyclage des gaz du gueulard et stockage du carbone (CCS), nouvelles réductions par biomasse avec CCS, électrolyse directe du minerai de fer. Des essais en pilote et démonstrateur sont prévus dès 2015, peut-être à Hayange (Moselle). Pour l'aluminium, on insiste sur les procédés électro-intensifs d'élaboration. Pour l'aluminium primaire, la consommation électrique par kilo a été divisée par trois en cent ans grâce à l'amélioration des cuves d'électrolyse (dont Pechiney est le leader mondial), des progrès importants ont aussi été réalisés sur les émissions directes de gaz. Il reste à produire une technologie de

rupture avec des électrodes dimensionnellement stables et sans émissions de CO_2 .

C'est par la recherche et l'innovation que la métallurgie en France et en Europe démontrera sa compétitivité et retrouvera son image. Car le paradoxe est immense : dans l'Hexagone, les milliers d'entreprises de la métallurgie proposeront de 60 000 à 80 000 postes d'ici 2015, mais nombre de ces offres d'emploi ne seront pas satisfaites faute de candidats et de jeunes qualifiés ou diplômés. C'est à la fois le déficit d'image et l'amaigrissement des filières de formation dans les IUT, les universités et les écoles d'ingénieurs qui en sont la cause. Pour compenser cela, l'UIMM se tourne de plus en plus vers l'apprentissage et la formation duale car dans ce secteur, 80 % des jeunes qui suivent ces parcours trouvent un job définitif. Au-delà d'un effort à fournir par

le monde éducatif et les pouvoirs publics, reste la réalité économique des grands marchés. Un grand groupe mondial comme Arcelor-Mittal a clairement annoncé son intention de fermer un certain nombre d'aciéries en Europe. Le coût de l'énergie et les marchés de l'acier plus favorables en Asie et au Moyen-Orient déplacent l'activité. Pour un autre grand comme Rio Tinto Alcan, l'électricité représente plus du tiers des coûts de production de l'aluminium primaire ; les coûts du kWh en Europe sont deux fois plus élevés que dans d'autres régions du monde, et la France, pourtant bien placée grâce à l'électricité nucléaire, a du mal à lutter contre les alumineries du Canada et celles du Moyen-Orient.

Dans des secteurs qui sont stratégiques pour la France – les alliages d'aluminium pour Airbus, les aciers spéciaux des gazoducs, l'Invar® pour les navires gaziers, les cuves des réacteurs nucléaires... –, le rapport des académies interpelle les scientifiques et les Ministères concernés afin que nous agissions enfin pour cette métallurgie si proche de la chimie.

Jean-Claude Bernier,
le 1^{er} septembre 2012

[1] La métallurgie, sciences et ingénierie, Pineau A., Quéré Y. (coord.), Rapport commun Académie des sciences/Académie des technologies, EDP Sciences, 2011 (voir analyse sur www.lactualitechimique.org, page liée au sommaire de ce numéro, rubrique « Livres et médias »).



Jean-Claude Bernier
est vice-président
de la SCF.



Les hauts fourneaux de l'usine Arcelor-Mittal de Florange (Moselle).



Je suis membre de
la Société Chimique de France,
et vous ?

Rejoignez le réseau des chimistes : votre association !
www.societechimiquedefrance.fr


 Société Chimique de France

Paul Sabatier, prix Nobel de chimie 1912 : un universitaire régionaliste et chercheur de talent

Biographie et œuvre scientifique

Armand Lattes

« Procédé Sabatier-Senderens, hydrogénation catalytique, nickel réduit, 180 °C. » C'est en ces termes que la plupart des chimistes définissent Paul Sabatier et résument son œuvre en lui associant Senderens ! Ceci est évidemment trop réducteur et cache l'exceptionnelle carrière de ce savant « si discret »...

Mais qui était-il donc ? Et qui était Senderens, toujours associé à ses découvertes fondamentales mais oublié du prix Nobel 1912 qui couronnait Paul Sabatier en même temps que Victor Grignard ?

C'est dans la partie moderne de la ville médiévale de Carcassonne que naquit Paul Sabatier, le 5 novembre 1854, septième enfant d'Alexis Sabatier et de Madame née Pauline Guilhem, tous deux originaires du département de l'Aude : Montréal pour Alexis et Arzens pour Madame [1]. À l'origine modeste propriétaire terrien, Alexis avait dû abandonner son exploitation pour « s'exiler en ville » et ouvrir, avec Pauline, un commerce de chapeaux.

Le foyer avait déjà vu naître quatre filles et deux garçons qui, comme dans beaucoup de familles bourgeoises de l'époque, avaient été élevés par des nourrices. Le décès du sixième enfant qui, mal surveillé, avait succombé à des

brûlures, amena les parents à garder auprès d'eux le petit dernier qui fut élevé en grande partie par sa sœur aînée Céline. Plus âgée que lui de 17 ans, très intelligente, elle devait par la suite apprendre le latin et les mathématiques afin de les enseigner à son frère.

Il ne fait aucun doute que c'est dans ce cocon familial que les sentiments régionalistes de notre futur savant ont trouvé naissance et se sont fortement ancrés !

Très doué, très précoce, Paul savait compter à trois ans et connaissait l'alphabet.

Élève à l'école primaire de Carcassonne, où il accumulait les prix, il rejoignit en 1868 le lycée de Toulouse où son oncle Paul Guilhem venait d'être nommé et avait accepté d'être son tuteur.

En mai 1869, la défaite des démocrates aux élections en France fut suivie de mouvements divers dans cet Empire français de Napoléon III qui était de plus en plus contesté. À Toulouse, quelques centaines de perturbateurs mettaient du désordre place du Capitole, désordre dû pour une grande part aux lycéens qui poursuivaient la contestation au sein même de leur lycée. L'administration demanda alors le licenciement de tous les élèves et, bien que Paul Sabatier ne participât point à ce mouvement car il était très dévoué à l'Empereur contrairement à ses collègues lycéens pratiquement tous républicains, il devait subir le sort commun. Ces désordres et l'éloignement de l'oncle Paul, nommé à Montauban, remplissaient d'inquiétude les parents qui décidèrent de confier sa formation aux pères jésuites du collège Sainte-Marie de Toulouse, collège qui devait par la suite devenir le célèbre établissement appelé Le Caousou à partir de 1874.

C'est dans cet environnement que se développèrent plusieurs traits de sa personnalité :

- catholique convaincu – même si, au lycée, sa place de 13^e en instruction religieuse n'était pas brillante –, il aimait suivre les cérémonies religieuses, les processions, nombreuses en cette année où l'on célébrait les noces d'or du pape Pie IX ; le collège des pères jésuites se révéla favorable au développement de la philosophie religieuse qu'il devait adopter toute sa vie ;

- grand admirateur de l'Armée, il adorait les défilés et se réjouit fort des grandes manœuvres du 14 mars 1870 à Toulouse, ce que sa sœur Valérie rapporta dans une lettre à leur frère Théodore : « notre frère Paul a envie d'être, quelque jour, général. »

Il adorait aussi les sciences et ne manquait pas de suivre, en 1868, les conférences et cours publics de Filhol et de Daguin dans l'amphithéâtre de la Faculté des sciences de la rue Lakanal. Son oncle Paul écrivait d'ailleurs, dans une lettre du 20 février 1869 : « [...] la physique et la chimie passeraient avant tout ce qu'on lui fait apprendre au lycée : il voudrait toujours faire des expériences » ; ou encore, le 27 de ce même



Paul Sabatier adolescent.

mois : « Ses lettres à son frère Théodore sont tout à fait scientifiques et parfois hérissées de formules chimiques et ornées de dessins qui représentent les manipulations qu'il a vu faire en cours et qu'il se propose de refaire lui-même »..., mais il ajoute : « [...] avant tout il faut qu'il fasse de bonnes études littéraires ; lorsqu'il aura le grade de Bachelier ès lettres, il pourra employer tout son temps à faire de sérieuses études scientifiques. »

C'est donc avec les baccalauréats ès lettres et ès sciences en poche, en 1872, qu'il commença ses classes préparatoires à Versailles à l'École Sainte-Geneviève. Deux ans plus tard, il est reçu à la fois à l'École Normale Supérieure (ENS) et à l'École Polytechnique, dans un très bon rang, et choisit l'ENS comme son frère Théodore, professeur de mathématiques à Carcassonne depuis 1870. Le choix de l'ENS peut paraître surprenant quand on se rappelle son adoration pour l'Armée ; il s'explique par la chronologie des résultats d'admission aux deux écoles : les résultats pour l'entrée à Polytechnique ont été publiés plus tard et l'un de ses professeurs avait prédit son échec à ce concours ! À l'ENS, il se lie d'amitié avec Émile Picard et Marcel Brillouin, amitié qui devait ne jamais cesser.

Paul Sabatier était un étudiant instruit à la fois en sciences et en philosophie, mais également ouvert à toutes formes d'art : à des talents de peintre s'ajoutait un don musical certain qui lui permettait même d'improviser au piano. Pendant ses études parisiennes, son goût pour les sciences se trouva renforcé, en particulier grâce aux remarquables enseignements de Charles Friedel et Henri Sainte-Claire-Deville, et à l'environnement expérimental que l'introduction de la recherche à son école par Louis Pasteur, directeur de la section scientifique, avait permis de développer.

Rappelons qu'à cette époque, la chimie française comptait quatre grands savants :

- Louis Pasteur, trois fois président de la Société Chimique de France, dont on connaît les magnifiques travaux, et qui était antipositiviste et spiritualiste ;
- Claude Bernard, qui avait porté à un haut niveau les méthodes expérimentales en physiologie, mais aussi en chimie ;
- Adolphe Wurtz, à la tête de l'école atomiste française, trois fois président de la Société Chimique de France ;
- Marcelin Berthelot, qui présida la Société Chimique de France pendant quatre mandats. Malgré ses grandes qualités scientifiques il continua à utiliser la théorie des équivalents et, à la suite de ses fonctions comme ministre de l'Instruction publique, bloqua l'enseignement de l'atomistique jusqu'en 1890, refusant aussi la classification de Mendeleïev. Rationaliste, intolérant, matérialiste, il était l'opposé de Louis Pasteur au plan philosophique.

En 1877, à 23 ans, Paul Sabatier, reçu premier à l'agrégation de sciences physiques, fut nommé professeur au lycée de Nîmes où il enseigna quelques mois avant de revenir à Paris. Sollicité à la fois par Louis Pasteur et Marcelin Berthelot, il choisit contre toute attente Berthelot et le Collège de France où, en 1878, il devint préparateur. Ce choix de Berthelot peut paraître étonnant car leurs pensées philosophiques étaient totalement divergentes. Il s'explique par l'image internationale de ce grand homme et la qualité de son œuvre scientifique.

Le travail de recherche entrepris par Sabatier concernait les sulfures métalliques. Il devait aboutir, en 1880, à la soutenance d'une thèse de doctorat ès sciences intitulée : *Recherches thermiques sur les sulfures*. Dans ce travail, il fut amené à préparer et étudier de nombreux composés

nouveaux ou mal connus avant lui : avec minutie, il y décrit des méthodes de synthèse encore actuelles. Parmi les propriétés des sulfures, il a étudié plus spécialement l'action de l'eau, l'hydrolyse et la formation de sulhydrates [2].

Docteur ès sciences à 26 ans, trois universités lui proposent un poste de maître de conférences (aujourd'hui professeur de 2^e classe) : Alger, Bordeaux et Lyon. C'est à la Faculté des sciences de Bordeaux (la plus proche de Toulouse !)

qu'il exerça d'abord en enseignant la physique. Moins de deux ans après, en 1882, c'est toujours en physique qu'il sera nommé à Toulouse comme chargé de cours, passant de la physique à la chimie en 1883, pour être enfin nommé professeur titulaire de la Chaire de chimie générale le 24 novembre 1884, à 30 ans, l'âge minimum requis pour occuper un tel poste.

Pour un universitaire, enseigner en Province était à cette époque à la fois un défi et une aventure, et le choix de notre illustre scientifique risquait de compromettre sa carrière de chercheur car le peu de recherche d'alors était réalisé exclusivement, ou presque, à Paris. Ce choix correspondait certes à ses souhaits, mais il ne fait aucun doute qu'il a aussi été aidé par Berthelot qui n'appréciait pas les positions de Paul Sabatier quant aux avancées modernes de la chimie, le système atomique et la classification de Mendeleïev, et préférait le voir s'éloigner de la capitale !

À peine installé, il prend l'initiative de créer le premier laboratoire de recherche de la Faculté des sciences, laboratoire qu'il devait diriger et animer de 1884 à 1939, et dont on lui laissa la jouissance après sa mise à la retraite. C'est d'abord rue Lakanal, dans une dépendance de l'hôtel de Bernuy (aujourd'hui lycée Pierre de Fermat), qu'il s'installa. Les difficultés qu'il dut surmonter pour réaliser cette installation sont



Le premier laboratoire toulousain de Paul Sabatier.

très bien décrites dans un extrait du livre que les Éditions Privat éditèrent à l'occasion du 700^e anniversaire de la création de l'Université de Toulouse : « *Quand Monsieur Sabatier vint comme chargé de cours remplacer Monsieur Daguin (janvier 1882), il se préoccupa de réaliser pour la physique un laboratoire d'enseignement et de recherches. Il y parvint en transférant dans l'ancien logement du Doyen situé au premier étage, les vitrines du cabinet de physique libérant ainsi au rez de chaussée, derrière la salle de cours, trois pièces que l'on s'efforça d'éclairer et d'aménager pour y installer les travaux pratiques de physique. Une vaste salle humide, qui servait de dépôt de bois de chauffage et ne recevait le jour que d'une cour intérieure voisine de la tour du lycée, put aussi être assainie et devint un laboratoire de recherches.* »

Dès 1892, c'est dans les locaux neufs de la Faculté des sciences, allée Saint-Michel, que furent transférées toutes ces activités.

Paul Sabatier, régionaliste convaincu et universitaire moderne

Lors de la cérémonie commémorative du centenaire de la naissance de Paul Sabatier, le professeur Camichel, membre de l'Institut, termina ainsi son discours : « *Il a admirablement rempli les deux grandes missions de l'Université : l'enseignement et la recherche ; il nous laisse un grand exemple, j'ajoute qu'il n'a jamais voulu quitter la province qui l'avait vu naître, l'Université et la ville qu'il avait, dès le début de sa carrière, choisies et c'est pour cela qu'à notre admiration pour lui se mêle un sentiment plus doux que le temps n'affaiblira pas, celui de notre profonde reconnaissance et de notre affectueux souvenir* » [3].

Pourtant, les avantages parisiens, par rapport à la situation des provinciaux, ne manquaient pas :

- plus grandes facilités de recherches ;
- salaires plus élevés – en 1881, un professeur débutant avait un salaire de 12 000 francs à Paris, quant un professeur de province en touchait 11 000 au sommet de sa carrière ;
- possibilité de cumul (à Paris, il était possible d'occuper plusieurs postes, c'est ainsi que le physicien et astronome Eleuthère Mascart en occupait quatre) ;
- et possibilité d'être nommé membre titulaire de l'Académie des sciences du quai Conti car le règlement obligeait les académiciens à résider en région parisienne.

À aucun moment de sa carrière il n'avait été tenté de retourner à Paris, à la différence de M. Brillouin et A. Cotton qui n'avaient fait qu'un court séjour à Toulouse. Les occasions ne lui avaient cependant pas fait défaut : lorsque l'Académie des sciences lui décerna le prix Lacaze en 1897, puis le prix Jecker en 1905, et enfin le nomma correspondant de la section chimie cette même année 1905, ses collègues parisiens insistèrent pour qu'il les rejoigne. En 1907, après la mort à quelques mois d'intervalle d'Henri Moissan et de Marcelin Berthelot, ces avances se firent encore plus pressantes et le devinrent davantage quand le prix Nobel de chimie lui fut décerné en 1912. Tous ces appels n'eurent aucun succès, en raison certes de son attachement sentimental à ses racines,

mais aussi parce qu'il considérait que les charges administratives imposées aux scientifiques parisiens étaient très dommageables pour la recherche scientifique. Ajoutons à cela qu'il avait horreur de la vie mondaine – il avait pu l'apprécier lorsque, jeune thésard, il était invité dans le salon de Berthelot fréquenté par Ernest Renan et Georges Clemenceau. La mort de son épouse, en 1898, avait considérablement augmenté cette phobie.

Paul Sabatier était très en avance sur son temps quant à l'image qu'il se faisait de l'Université, de son métier, de la formation des étudiants. Plusieurs de ses initiatives peuvent être considérées comme des innovations révolutionnaires encore d'actualité ou faisant toujours l'objet de débat.

Pour comprendre son œuvre, il est bon de rappeler ce qu'était la situation des établissements d'enseignement supérieur en France sous la Troisième République. Cette situation était critique au milieu des années 1870 : manque de locaux, de crédits, de moyens, absence de laboratoires et misère des bibliothèques. Une réforme devenait indispensable ; elle fut surtout l'œuvre de Jules Ferry et de Louis Liard, directeur de l'Enseignement supérieur au Ministère de l'Instruction publique de 1884 à 1902. Ce

dernier commença par promulguer deux décrets par lesquels les Facultés obtinrent un statut de personnalité juridique, ce qui leur permit de recevoir des aides substantielles de la part des municipalités. Elles sont aussi dotées d'une structure légale comprenant conseils et assemblées, structure en place jusqu'en 1968. De plus, la France était divisée en dix-huit académies dirigées par un recteur en charge à la fois de l'enseignement primaire, secondaire et supérieur.

Liard, pour corriger les défauts de la structure en Facultés indépendantes telles qu'elles existaient dans les seize villes universitaires, décida de créer cinq ou six Universités de province sur tout le territoire, proposition qui devait entraîner immédiatement une compétition entre les autorités locales pour faire partie des villes retenues.

À Toulouse, la déception fut très grande lorsqu'on apprit que la ville rose ne serait pas retenue ! Toutes les personnalités que comptait la cité vont se mobiliser pour faire changer d'avis Liard qui avait fondé son argumentation sur la localisation géographique et les potentialités des futurs centres. Toulouse, entre Montpellier et Bordeaux, pouvait s'effacer au profit de ces deux villes, tandis que la présence de seulement trois Facultés (lettres, sciences et droit, l'École de médecine n'ayant pas les 250 étudiants minimum requis et la Faculté de théologie étant délocalisée à Montauban) ne justifiait pas la création d'une Université. La réaction fut très vive : Bordeaux n'est pas le Midi et Montpellier est surtout associé à Marseille, de plus, c'est à Toulouse que le nombre d'inscriptions augmentait le plus vite, justifiant le doublement du nombre de professeurs entre 1878 et 1888.

Tous ces arguments étaient repris par un homme exceptionnel qui fit de cette promotion un combat qu'il mena avec détermination : Jean Jaurès, maître de conférences à la Faculté des lettres, adjoint au maire de Toulouse et journaliste au journal local *La Dépêche*. Comme adjoint, il avait participé en 1891 à l'inauguration de la nouvelle Faculté des sciences et, en 1892, des nouvelles Facultés des lettres et droit, toutes



Frontispice de l'Université de Toulouse.

construites grâce à l'aide de la municipalité, aide autorisée par les décrets de Liard. En 1890, il avait secondé le recteur Ch.-Marie Perroud et obtenu avec lui la transformation de l'École de médecine en Faculté. Ayant appris que la proposition de Liard devait passer devant le Parlement, il mobilisa tout ce que la ville comptait comme organismes, personnalités, cercles, associations ; il participa à une campagne de sensibilisation dans *La Dépêche* et invita le nouveau ministre de l'Instruction publique, Léon Bourgeois, à visiter les Facultés toulousaines. Comme d'autres villes avaient mené le même combat, le gouvernement céda et ce sont dix-sept corps universitaires qui furent créés en 1893 et baptisés Universités en 1896 : Toulouse était du lot !

Dès sa nomination comme professeur, Paul Sabatier s'investit à fond pour son université, à tel point que le doyen Baillaud le proposa pour lui succéder au décanat pas plus tard qu'en 1885. Rattrapé par ses convictions politiques et religieuses à une époque où s'affrontaient cléricaux et républicains, il avait essuyé un refus de la part du recteur Perroud qui écrivait au ministre : « *Ses opinions et ses croyances religieuses l'ont engagé un peu loin du camp libéral.* » Il ne sera nommé doyen qu'en 1905, distinction dont il exerça les fonctions jusqu'en 1929.

Excellent pédagogue, de l'avis même de ses anciens élèves, il s'était donné comme objectif d'accroître le niveau de formation des étudiants toulousains et de faire participer son établissement à la vie sociale et industrielle du pays en l'orientant en partie vers l'enseignement des sciences appliquées. Il voulait aussi rompre avec le caractère encyclopédique de l'enseignement – tant secondaire que supérieur –, refusant le « par cœur » et privilégiant toute formation personnelle. Favorable à une spécialisation, il proposa que celle-ci intervienne au deuxième semestre de la troisième année de licence, ce qui supposait une diversification de ces licences, réforme que le Ministère refusa.

Il profita par contre d'un décret de la fin du XIX^e siècle qui définissait trois fonctions pour les professeurs : formation, recherche et « *rendre service à la Société* ». Ainsi dès 1888, il professait le soir un cours public de chimie agricole dans le vieil amphithéâtre de la rue Lakanal ; le choix de la discipline était lié à l'importance de l'agriculture pour l'économie régionale. Devant le grand succès de ses conférences, un enseignement de chimie agricole fut créé l'année suivante. En 1893, une station agronomique était annexée à la Faculté des sciences, suivie l'année après d'une station d'essais de semences et de pathologie végétale et, en 1901, d'une station de pisciculture et d'hydrobiologie. Tout ce travail devait aboutir en 1909 à la création d'une École d'ingénieurs agricoles grâce aux fonds apportés par la municipalité, le Conseil général de la Haute-Garonne et diverses associations agricoles et horticoles.

Depuis 1896, un enseignement de chimie appliquée était dispensé aux étudiants toulousains et un diplôme de chimiste délivré par la Faculté. En 1906, ce diplôme fut remplacé par un diplôme d'ingénieur chimiste préparé au sein de la Faculté des sciences, dans l'Institut de chimie, Institut de Faculté qui, devant le succès qu'il obtint, fut rapidement promu « Institut d'Université ».

La houille blanche apparaissait à notre savant comme une opportunité pour la région de sortir de la situation qui la faisait apparaître



Le doyen Paul Sabatier (vers 1905).

comme vouée essentiellement à l'agriculture, étant handicapée dans tout développement industriel par l'absence d'approvisionnement proche en charbon. Cette idée est à la base de la création en 1907 de l'Institut d'électrotechnique et de mécanique appliquée qui délivrait un diplôme d'ingénieur, mais aussi celui de conducteur, équivalent de nos jours à celui de technicien supérieur.

C'est dans la gestion et l'animation de ces instituts que le doyen put mettre ses idées novatrices en application. Les élèves avaient ainsi la possibilité de suivre une partie de leurs études dans un autre pays que le leur ; la réciprocité étant de fait : en 1929, les deux tiers des étudiants de l'Institut de



Promotion 1909 de l'Institut de chimie de Toulouse.

Immédiatement à gauche de Paul Sabatier, on reconnaît Alphonse Mailhe, et parmi les élèves (2^e rang, 4^e à partir de la droite), Georges Mignonac, major de la promotion.

chimie étaient des étrangers. Grâce à des échanges avec les étudiants américains, les élèves des instituts toulousains pouvaient terminer leurs études à Harvard.

Très novatrice aussi était l'idée d'accepter la formation de contremaîtres et de techniciens dans des établissements relevant de l'Université. Plus révolutionnaire encore apparaissent ses conceptions d'admettre des élèves non bacheliers dans des établissements relevant de l'enseignement supérieur. Ce fut le cas en 1906 de Georges Mignonac qui a été par la suite à l'origine de très beaux travaux en chimie organique et a été le successeur direct de Sabatier à la direction de l'Institut de chimie.

Institut de chimie en 1906, Institut d'électrotechnique et de mécanique appliquée en 1907, Institut agricole en 1909 : toutes créations remarquables de Paul Sabatier. En 1920, à l'initiative du professeur Camichel, une tentative d'autonomie de ces instituts a été amorcée pour la création d'un Institut polytechnique polyvalent qui devait les regrouper (à l'image de ce qui existe à notre époque avec l'Institut national polytechnique de Toulouse). Face à l'opposition du Conseil de la Faculté des sciences, ce projet devait avorter.

Le succès de ces créations ne se fit pas attendre, comme on peut en juger en observant l'évolution des recrutements ; par exemple, à l'Institut de chimie, enfant chéri du doyen : alors qu'il accueillait seulement onze étudiants en 1906, l'Institut en comptait soixante-neuf en 1911.

Les autres instituts suivirent ce mouvement, à tel point que pendant l'année scolaire 1928-1929, sur les 1 479 étudiants que comptait la Faculté des sciences, 952 étaient inscrits dans ces établissements : 265 en chimie, 492 en électrotechnique et 195 en agriculture. Si l'on enlève les 235 élèves du certificat PCN préparant aux professions médicales, on voit qu'il n'en reste que 292 à la Faculté proprement dite ! Les enseignements appliqués alimentaient donc de façon prédominante les effectifs étudiants.

Pour terminer, on peut citer une autre série de chiffres particulièrement significatifs : en 1927, à côté des 47 diplômes de licenciés attribués, la production des diplômes « appliqués » est significative : 84 ingénieurs chimistes, 4 ingénieurs électrochimistes, 101 ingénieurs électriciens, 26 ingénieurs mécaniciens, 23 ingénieurs agricoles, mais aussi 24 conducteurs de tracteurs et de machines agricoles, 13 conducteurs mécaniciens agricoles et 16 brevets de conducteurs électriciens.

Pour accompagner ces succès, un nouveau bâtiment fut construit rue Sainte-Catherine au bénéfice de l'Institut de chimie. Pour compléter le financement, le doyen Sabatier fit don d'une partie de la somme accompagnant son prix Nobel, ce qui permit de terminer les locaux au début de la Grande Guerre. Cependant, en raison de celle-ci, l'Institut fut réquisitionné pour servir d'hôpital et ne put être utilisé par les chimistes qu'à partir de 1920.

Tout ce qui précède montre combien Paul Sabatier était un précurseur dans ces domaines si importants de la pédagogie, de la décentralisation, de la professionnalisation et de l'autonomie des Universités. Ces créations entraînèrent une concertation prononcée avec les milieux économiques, qui se traduisit par exemple dans l'organisation de visites d'usines et la participation d'ingénieurs aux enseignements, concertation qui fut couronnée, après la guerre 1914-1918, par l'installation à Toulouse, au titre des dommages de guerre, d'une usine de fabrication de nitrates et d'acide nitrique, l'ONIA (plus récemment AZF).

L'œuvre scientifique de Paul Sabatier

Contrairement à une idée bien ancrée dans l'esprit des chimistes, Paul Sabatier n'était pas un chimiste organicien ! Ses travaux, tout au moins au début, s'inscrivent davantage dans le domaine de la chimie inorganique : il n'a d'ailleurs jamais occupé la chaire de chimie organique, mais celle de chimie générale, l'amenant à enseigner, de façon indifférenciée, l'une ou l'autre de ces deux disciplines. De même son successeur, le professeur Cathala, spécialiste de génie chimique (dont il fit un nouvel institut toulousain de grande qualité) appartenait-il à la population des physico-chimistes.

Nous avons vu que le sujet de la thèse proposé par Berthelot le conduisit à préparer et étudier de nombreux composés nouveaux appartenant à la famille des sulfures métalliques, ce qu'il accompagna de nombreuses mesures thermochimiques. C'est cette chimie du soufre qu'il continua d'étudier plusieurs années après avoir obtenu le grade de docteur.

Ainsi, il prépara à l'état de pureté le persulfure d'hydrogène (disulfure d'hydrogène) que Scheele, Berthollet et Thénard avaient déjà entrevu et utilisé, et dont il détermina de nombreuses propriétés [4]. Il obtint ensuite des sulfures et sous-sulfures de silicium (SiS_2 et SiS) et de bore (B_2S_3 et B_4S) [5], avant de s'attaquer aux composés du sélénium, bien moins connus que ceux du soufre [6].

Il se tourna alors vers d'autres composés binaires : les halogénures métalliques, plus précisément les chlorures et bromures du cuivre divalent et du fer trivalent. À cette occasion, il fit une belle observation à partir du composé bleu obtenu par l'action des sels cuivreux sur l'acide sulfurique nitreux, et montra que la couleur bleue-pourpre de ce composé, l'acide nitrosodisulfonique, n'était pas due au cuivre mais à un radical nitreux [7].

S'intéressant aussi à la force des acides, dont la thermo-chimie ne permet pas de donner des indications sur les valeurs relatives des diverses fonctions d'un polyacide, il a inventé une méthode colorimétrique grâce à laquelle, vers 1886, il prépare le terrain pour l'établissement de véritables échelles colorimétriques pour le suivi des réactions. Il a étendu ces travaux de colorimétrie à l'étude de la cinétique de transformation de l'acide métaphosphorique à l'aide d'indicateurs colorés [8]. En avance sur beaucoup de chimistes de son époque, toutes ces recherches le conduisirent à utiliser la spectroscopie d'absorption de façon intensive, faisant de lui l'un des premiers à appliquer la chimie physique en chimie minérale.

Ces premiers résultats personnels qui, en 1897, forment un ensemble de près de 90 publications dont une quarantaine aux *Comptes Rendus de l'Académie des sciences*, amenèrent cette institution à lui décerner le prix Lacaze et firent l'objet d'une très belle conférence qu'il prononça cette même année à Paris devant la Société Chimique de France, conférence qui eut un très grand retentissement dans la communauté des chimistes.

Il a été déjà signalé que Paul Sabatier avait adopté très tôt la théorie atomique et la classification périodique de Mendeleïev, ce qui lui valut la hargne de Berthelot qui cessa de présenter ses notes à l'Académie des sciences dès 1890 !

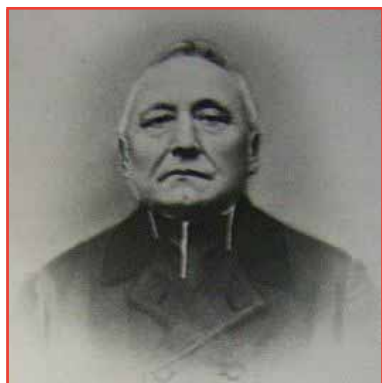
De la chimie minérale à la chimie organique

C'est en chimiste « inorganicien » que notre savant aborda la suite de ses travaux qui devaient le conduire à proposer une

nouvelle méthode d'hydrogénation des composés insaturés et imaginer un mécanisme pour la catalyse.

En 1890, Ludwig Mond, Carl Langer et Friedrich Quincke avaient synthétisé un composé mixte du nickel et du monoxyde de carbone : le nickel carbonyl [9] de formule Ni(CO)_4 , bientôt suivi du fer pentacarbonyl Fe(CO)_5 , obtenu indépendamment par Mond et Berthelot [10] ; la molécule « incomplète » d'oxyde de carbone s'ajoutait donc à des métaux. Sabatier eut l'idée qu'il devrait être possible de faire la même chose avec d'autres molécules « incomplètes » et proposa à Senderens de vérifier cette hypothèse.

Mais qui était donc Senderens ?



L'abbé Jean-Baptiste Senderens
(1856-1937).

Jean-Baptiste Senderens était un prêtre du diocèse de Tarbes, né en 1856 dans le petit village de Barbachen dans les Hautes-Pyrénées [11]. Au cours de ses études primaires et secondaires, il manifesta un intérêt très fort pour les sciences, intérêt que sa hiérarchie devait encourager par la suite à cette époque où l'Église catholique estimait nécessaire de s'investir dans les disciplines scientifiques pour répondre aux accusations d'obscurantisme des

radicaux anticléricaux, « *contenir la science dans ses justes limites* », et accompagner la mise en place de Facultés catholiques : « *Emparons-nous de la science* » s'écriait Mgr D'Hulst, recteur de l'Institut catholique de Paris le 23 novembre 1883.

Ordonné prêtre en 1880, il suivit simultanément à Toulouse des études de lettres à l'Institut catholique et des études de chimie à la Faculté des sciences. Édouard Filhol, titulaire de la chaire de chimie depuis 1854, l'accueillit dans son laboratoire, où il commença à préparer une thèse. À la mort de Filhol en 1883, Sabatier lui succéda et accompagna l'abbé Senderens jusqu'à la soutenance de sa thèse, en 1892 ; comme on peut en juger, le titre de ce travail – *Action du soufre sur les oxydes et les sels en présence d'eau* – porte la marque de son nouveau maître !

Le grade scientifique ainsi acquis venait s'ajouter à celui de docteur en philosophie que l'abbé avait obtenu à Rome en 1888. À 38 ans, après son grade de docteur ès sciences, il est fait chanoine honoraire et, tout auréolé de ces grades et récompenses, arrive au bon moment pour poursuivre ce que l'on appellerait aujourd'hui un post-doc, sur le nouveau sujet que lui propose Sabatier.

Les étapes de la découverte

En bon minéraliste, Sabatier choisit d'étudier d'abord les combinaisons des métaux avec les oxydes d'azote. Avec Senderens, ils obtinrent des « métaux-nitrés », véritables combinaisons du peroxyde d'azote avec des métaux réduits de leurs oxydes (cuivre, cobalt, nickel) : ainsi avec le cuivre, un solide noir instable de formule Cu_2NO_2 [12]. L'impossibilité d'étendre ces résultats aux autres soxydes d'azote (NO et N_2O) les obligea à changer de famille de composés insaturés, et à se tourner vers les potentialités de la chimie organique : c'est ainsi qu'ils choisirent l'éthylène et l'acétylène comme premiers exemples.

Une recherche bibliographique rapide permettait de s'apercevoir que Henri Moissan et Charles Moureu avait déjà exploré superficiellement l'action de l'acétylène sur le fer, le nickel et le cobalt. Avec le nickel par exemple, ils observaient au passage de l'acétylène une forte incandescence, un dépôt de charbon sur le nickel, la formation d'hydrocarbures liquides (benzène et styrène) et un important dégagement gazeux qu'ils attribuèrent, *mais sans l'analyser*, à de l'hydrogène [13].

Après s'être assurés que Moissan et Moureu ne continuaient pas cette étude, Sabatier et Senderens recommencèrent l'expérience mais avec l'éthylène qui devait être **moins réactif** que l'acétylène. L'éthylène dirigé sur du nickel, du cobalt ou du fer, récemment réduits et maintenus à une température voisine de 300 °C, se comporte comme ce que Moissan et Moureu ont décrit avec l'acétylène : il apparaît une vive incandescence accompagnée d'un dépôt volumineux de charbon et un fort dégagement de gaz [14]... Mais Sabatier était élève de Berthelot dans le laboratoire duquel on apprenait à analyser systématiquement les gaz ! Il demanda à Senderens de les recueillir et les analyser. En réalité, le mélange ne contenait que peu d'hydrogène ; il était surtout composé de méthane et d'éthane, éthane dont on ne pouvait expliquer la formation que par l'hydrogénation de l'éthylène. La décomposition partielle produisant du charbon et de l'hydrogène, cette hydrogénation était sans doute provoquée par le métal. Cette dernière hypothèse fut vérifiée en 1897 en opérant de la même façon, mais cette fois en dirigeant sur le nickel un mélange d'éthylène et d'hydrogène : la transformation en éthane se fait avec un très bon rendement et le même métal peut servir indéfiniment, agissant ainsi comme un catalyseur [15].

En analysant les motifs qui ont amené Sabatier à revenir sur la réaction de ses illustres prédécesseurs, on comprend qu'il avait été guidé en grande partie par son opinion sur l'activité catalytique. Alors qu'ils postulaient un phénomène physique de condensation de l'acétylène dans les pores du métal, condensation qui s'accompagnait d'une forte quantité de chaleur suffisamment énergétique pour détruire ou polymériser l'acétylène, il pensait au contraire qu'il s'agissait de la formation d'une combinaison chimique du métal avec le gaz. Utiliser l'éthylène, moins réactif, devait permettre *éventuellement* de mettre en évidence cette combinaison.

Le procédé étendu à l'acétylène conduisit aux mêmes observations : en 1899, la même activité permit la préparation de l'éthane à partir de l'acétylène [16]. Il est intéressant de rapporter ici une observation qui avait fait beaucoup de bruit à l'époque : en reprenant la réaction de l'acétylène, mais en faisant varier les proportions d'hydrogène du milieu et la température, nos chercheurs obtenaient des huiles qui, suivant ces conditions, ressemblaient au pétrole de Bakou, de Galicie, de Roumanie ou de Pennsylvanie, d'où l'expression d'une théorie générale sur la genèse minérale des pétroles.

Le nickel se révéla vite le meilleur métal pour les réactions d'hydrogénation. Restait alors à relever un défi : l'hydrogénation du benzène en cyclohexane, réaction qui fut réussie en 1901 [17]. À 180 °C, en présence de nickel réduit, finement divisé, le benzène est totalement transformé en cyclohexane. C'était un défi car les précédents essais, réalisés en tube scellé par Berthelot qui utilisait la décomposition thermique de l'acide iodhydrique (agent universel d'hydrogénation) comme source d'hydrogène, conduisaient non pas au cyclohexane, mais au méthylcyclopentane à la suite d'une isomérisation dans le milieu réactionnel. Ce fut une grande joie pour Sabatier qui termina sa présentation orale devant les

membres de la section toulousaine de la Société Chimique de France par cette phrase : « *Plus de tube scellé, plus d'œil crevé !* »

Convaincu alors du caractère général de sa découverte, il énonça en 1901, avec Senderens, le principe de la méthode : « *Sur du nickel récemment réduit, maintenu à température convenable (généralement comprise entre 150° et 200°) on dirige les vapeurs de la substance, en même temps qu'un excès d'hydrogène.* »

De 1901 à 1905, ils appliquèrent ce procédé à un très grand nombre d'exemples :

- hydrogénation directe des nitriles en amines, des aldéhydes et cétones en alcools, du gaz carbonique et du monoxyde de carbone en méthane ;
- hydrogénation des carbures aromatiques homologues du benzène en composés cyclohexaniques : phénol en cyclohexanol, aniline en cyclohexylamine. De même, le naphtalène et l'acénaphène sont réduits en présence de nickel ;
- application aux terpènes.

Vers 1904-1905, les rapports entre les deux chimistes toulousains commencèrent à se dégrader, ce que l'on peut attribuer à plusieurs causes :

- l'arrivée dans l'équipe d'un nouvel élève, Alphonse Mailhe, que Senderens ne semblait pas apprécier ;
- l'application de la loi de 1905 sur la séparation des Églises et de l'État, qui ne permettait plus à l'abbé de venir en soutane au laboratoire de la Faculté des sciences ;
- enseignant à l'Institut catholique de Toulouse, dont il était directeur de l'École supérieure des sciences depuis 1883, il y poursuivait ses propres recherches dans un laboratoire très bien équipé, ce qui l'éloignait de son maître, à la différence de Mailhe installé à la Faculté des sciences ;
- la perte pour Senderens du traitement d'ecclésiastique qu'il recevait de l'État avant 1905, ce qui l'amena à rechercher des compensations pécuniaires, en particulier auprès de l'industriel Camille Poulenc avec la société duquel il travailla longtemps ;
- et – peut-être ? – un différent idéologique avec Paul Sabatier qui, bien que catholique pratiquant, était franc maçon, membre de la loge « Les vrais amis réunis ».

On peut alors s'expliquer que la collaboration entre les deux chimistes s'arrêta en 1907, date à partir de laquelle on ne trouve plus de publications communes. Au préalable et malgré cela, en 1905, c'est ensemble qu'ils furent récompensés par l'Académie des sciences qui leur décerna le prix Jecker, tandis que l'abbé recevait aussi la Médaille Berthelot.

Sabatier poursuivit donc ses recherches essentiellement avec Mailhe avec qui il continua d'appliquer l'hydrogénation

catalytique à de nombreux autres composés : ils réussirent ainsi l'hydrogénation des dérivés halogénés aromatiques, transformés en hydrocarbures, des acides insaturés, des oximes, des amides, des éthers isocyaniques, des carbamides, des dicétones, des crésols, etc. Avec son préparateur Murat, ce sont les acides et les esters benzoïques, résistant jusqu'alors à la méthode, qui ont pu être transformés en dérivés hexahydrobenzoïques.

C'est encore avec Mailhe qu'ils abordèrent l'utilisation des oxydes métalliques comme catalyseurs, s'en servant pour réaliser des réactions de déshydrogénation et de déshydratation. C'est à ces occasions qu'ils observèrent l'inversion des réactions catalytiques : un même catalyseur étant capable, suivant les conditions, de catalyser la réaction directe et la réaction inverse, hydrogénation et déshydrogénation, déshydratation et hydratation.

À partir de l'étude de la formation et de l'hydrolyse des esters [18], ils vérifièrent, en 1911, que dans les réactions équilibrées : « *La valeur de la limite n'est pas affectée par la présence du catalyseur, qui a seulement pour effet d'accroître fortement la vitesse à laquelle cette limite est atteinte.* »

Arrêtons là cette énumération qu'il faudrait compléter par tous les travaux des chimistes français et étrangers qui utilisèrent les méthodes et résultats de ce grand chimiste pour examiner ce qui constitue l'un des points les plus importants de son œuvre : l'établissement d'une théorie de la catalyse.

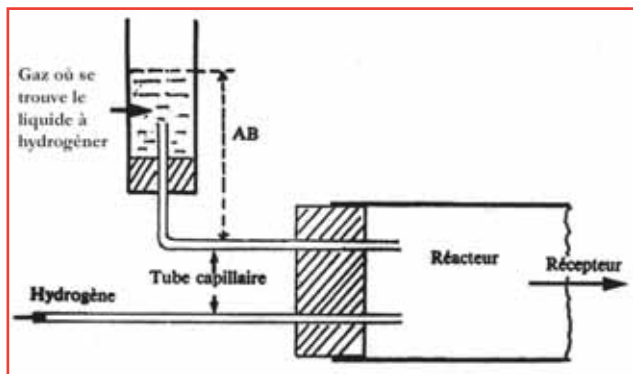
La théorie de la catalyse

Nous avons vu plus haut que Sabatier avait sur la catalyse des idées très différentes de celles proposées à son époque. L'explication la plus souvent avancée pour expliquer les phénomènes catalytiques sur les solides était purement physique : sur un métal poreux, on admettait que la condensation des substances produisait une élévation locale de température, apportant ainsi l'énergie nécessaire à la réaction. L'orientation différente des réactions, par exemple d'un alcool sur le cuivre (déshydrogénation) ou l'alumine (déshydratation) à la même température, ne pouvait s'expliquer par cette théorie.

Lors de la remise du prix Nobel à Stockholm, en 1912, il s'exprimait ainsi : « *Je pensais et je pense encore [...] que la cause déterminante de l'activité catalytique du platine poreux n'est pas un simple phénomène de condensation physique produisant une élévation locale de température, mais que c'est une véritable combinaison chimique superficielle du métal avec le gaz ambiant.* »

Cette hypothèse chimique était déjà écrite, en 1897, dans l'article aux *Comptes Rendus* qui rendait compte de ses premiers essais, article intitulé « Action du nickel sur l'éthylène » : « *On doit en rechercher la cause dans la formation entre le nickel et l'éthylène d'une combinaison instable, se dédoublant en carbone, méthane et nickel, capable de réitérer une formation identique.* »

Mais c'est en 1927, dans une note à l'Académie des sciences [19], qu'il énonça le mieux cette hypothèse, en ces termes : « *Les phénomènes de la catalyse peuvent être facilement interprétés par la formation, à partir du catalyseur et de l'un des constituants de système transformable, d'un composé temporaire, produit très vite et réagissant aussitôt avec les autres facteurs du système, en régénérant le catalyseur, qui recommence indéfiniment le même effet.* » Il ajoute un peu plus loin, au sujet de l'inversion des réactions catalytiques : « *On peut prévoir que cette formation intermédiaire fournie par le catalyseur sera généralement identique pour les deux réactions inverses fournies par le système chimique et que,*



Montage expérimental de l'hydrogénation catalytique.

par conséquent, les catalyseurs seront fréquemment capables d'agir sur ce système en deux sens opposés, selon les conditions où l'on se place. »

Les explications données par Sabatier devaient, en 1913, inspirer le recteur Paul Lapie qui, au cours d'une cérémonie en l'honneur du scientifique toulousain, les traduisit en termes simples capables de les faire comprendre par les non-scientifiques : « *Qu'est-ce que la catalyse, la méthode favorite de Monsieur Sabatier ? C'est la synthèse par laquelle deux corps, n'ayant pas l'un pour l'autre une très grande affinité, consentent à s'unir lorsqu'un métal préside à leur mariage. [...] Puisque le nickel, par exemple, est indispensable à la combinaison de l'acétylène et de l'hydrogène, il faut supposer que le nickel commence par attirer l'hydrogène, mais que l'hydrogène, capricieux, rompt bientôt avec le métal pour s'unir à l'acétylène. Les yeux n'aperçoivent, sous la présidence d'un métal passif, qu'une combinaison : l'esprit ne peut expliquer les faits que par deux mariages séparés par un divorce...* »

Ajoutons pour terminer que le caractère général de la catalyse ne lui avait pas échappé, et cela de façon si évidente, que notre grand savant n'a pas hésité à appeler les métaux catalyseurs des « *ferments minéraux* » par analogie avec les ferments biologiques. Là encore, ce qui s'applique aux uns s'appliquera aux autres, par exemple, le rôle des poisons : « *Comme les ferments organisés, qui sont tués par des doses infinitésimales de certains toxiques, le ferment minéral qu'est le métal est tué par des traces de chlore, de brome, d'iode, de soufre, d'arsenic, soit qu'elles lui viennent par l'hydrogène, soit qu'elles lui soient apportées par la substance qui doit subir l'hydrogénation. Ainsi le benzène, qui renferme des doses minimes de thiophène, ne peut être hydrogéné par le nickel.* »

En 1913, Paul Sabatier publia son ouvrage *La catalyse en chimie organique*, maintes fois réédité et traduit, dans lequel il rapporte le bilan des travaux accomplis depuis quinze ans tout en montrant leur enchaînement, en soulignant leur ordonnance, et en mettant en valeur les leçons que l'on peut en tirer.

Prix Nobel de chimie 1912

Très vite, la qualité de ses travaux fut reconnue et des nominations pour le prix Nobel commencèrent à être proposées. Ce fut d'abord en 1907, par Clément Georges Lemoine (de l'Académie des sciences), qui lui associa Senderens, puis en 1911, par Ernst Büchner (prix Nobel de chimie 1907), qui nomina seulement Sabatier, et par Gaston Darboux, secrétaire perpétuel de l'Académie des sciences, qui lui avait associé Georges Urbain, et Oskar Widman (de l'Académie royale de Suède), qui l'associait à Grignard. En 1912, c'est chose faite et le prix Nobel de chimie lui fut attribué en même temps qu'à Victor Grignard. La décision du jury est justifiée ainsi : « *pour sa méthode d'hydrogénation des combinaisons organiques en présence de métaux finement réduits, méthode qui a fait faire de grands progrès à la chimie organique.* »

Senderens n'apprécia pas du tout de n'avoir pas été associé à cette récompense ! Pour mieux comprendre sa rancœur, il faut revenir en arrière, le 13 mai 1911, à Berlin, où Sabatier avait été invité à prononcer une conférence devant l'Académie



Diplôme du prix Nobel de Paul Sabatier.

de chimie et où il indiquait en commençant : « *Je vais vous entretenir de la méthode générale d'hydrogénation directe par les métaux divisés, que j'ai instituée depuis une dizaine d'années avec la collaboration de mes élèves, M. Senderens d'abord, puis M. Mailhe.* » Être traité d'élève accompagnant le « j'ai » réducteur fit réagir le chanoine qui écrivit une réclamation à l'Académie royale de Stockholm sous la forme d'un dossier où il expliquait sa longue collaboration avec le lauréat en précisant : « *M. Sabatier a une tendance assez prononcée à se faire le seul auteur de ces méthodes.* »

Malgré la correction que le doyen fit paraître dans le même journal allemand qui avait publié sa conférence : « *Ces méthodes [...] sont élaborées par un travail qui nous est commun* », le mal était fait et le chanoine dut passer sa colère en écrivant trois articles de revue sur la catalyse où il mettait en valeur sa contribution personnelle à la découverte.

La polémique dure encore et les scientifiques s'interrogèrent toujours sur ce qui aurait dû être fait. Sans prendre position, nous nous contenterons de rapporter ce que Victor Grignard écrivit à son collègue et ami Meunier en réponse aux félicitations de celui-ci : « *À vrai dire et entre nous, j'aurais préféré, quitte à attendre encore un peu, voir partager le prix entre Sabatier et Senderens et le partager ensuite moi-même avec Barbier.* »

Senderens entreprit une collaboration avec la société Poulenc frères, devenue ensuite Rhône-Poulenc, à Toulouse dans son laboratoire de l'Institut catholique, puis à Vitry-sur-Seine, de 1911 à 1920, et enfin, à la retraite à 64 ans, chez lui à Barbachen où la société Rhône-Poulenc lui avait construit un laboratoire. Il travailla essentiellement sur les déshydratations et hydrogénations catalytiques ; pendant la guerre, il dirigea dans les établissements Poulenc les laboratoires de catalyse appliquée à la fabrication des poudres et gaz asphyxiants et continua à publier jusqu'à sa mort en 1937. Membre correspondant de l'Académie des sciences en 1922, il écrivit pendant toute sa carrière plus de 170 publications.

Quant à Paul Sabatier, en 1913, une modification du règlement de l'Académie des sciences ayant créé six postes de membre non résident, il fut le premier élu le 21 avril 1913 à rejoindre la section de chimie. Il continua à étudier la catalyse sur solides, en particulier les réactions d'hydrogénation et

déshydrogénation sur nickel et autres métaux, mais encore des réactions de dédoublement, ainsi que la formation d'aldéhydes et cétones à partir des acides.

Au total, sa production scientifique atteignit 324 notes et articles, jusqu'en 1927 date à laquelle, en raison de lourdes tâches administratives, il arrêta ses activités de recherche tout en continuant à enseigner. Il devait poursuivre cet enseignement jusqu'en janvier 1940, où il dut abandonner pour raison de santé. Le Conseil de la Faculté des sciences, lors de la séance du 7 juillet 1937, avait adressé une demande de dérogation auprès des autorités universitaires afin qu'il puisse continuer ses cours malgré sa mise à la retraite (à l'âge de 75 ans !). Parmi les arguments avancés, il était écrit : « *M. Sabatier, insensible aux morsures de l'âge, continue d'assurer son enseignement, qui est en même temps sa joie, avec le même succès et le même entrain qu'autrefois.* »

Conséquences et applications des travaux de Sabatier

L'hydrogénation catalytique directe de Sabatier-Senderens a été accueillie avec enthousiasme par leurs contemporains chimistes. Elle fit beaucoup pour la reconnaissance acquise par le doyen après cette découverte. Plus de cent ans après celles-ci, les systèmes associant l'hydrogène et des métaux font l'objet de travaux au plus haut niveau de la recherche, aussi bien dans ce qu'ils apportent au progrès des connaissances que dans leurs applications fondamentales et industrielles. Mais les conséquences ne s'arrêtent pas à ces seuls systèmes : elles sont importantes dans tous les champs de la catalyse hétérogène et homogène et servent également pour interpréter des phénomènes de catalyse biologique.

Devant le grand nombre d'exemples que l'on pourrait citer, nous examinons seulement quelques cas choisis de

façon très subjective ! Ces exemples, et bien d'autres encore, expliquent qu'une industrie des catalyseurs eux-mêmes a pu se développer.

La première grande application industrielle est, sans aucun doute, l'application du procédé mis au point par Fritz Haber en 1909, qui fut développé industriellement dès 1913 par la société BASF sous le nom de procédé Haber-Bosch. Il s'agit de l'hydrogénation catalytique du diazote en présence de solides à base de fer. On peut affirmer que ce procédé a sauvé l'humanité de la famine car il a permis de préparer, en grandes quantités, des engrais azotés de synthèse qui venaient à point pour remplacer les engrais naturels en voie d'épuisement. L'accès facile à l'ammoniac permet aussi de préparer, par oxydation, l'acide nitrique à la base de l'obtention de poudres et explosifs.

Le domaine dans lequel les développements ont été (et sont toujours) les plus importants, est celui de la pétrochimie. Nous avons vu plus haut que les réactions de l'acétylène dans différentes conditions catalytiques donnaient naissance à des huiles semblables à des pétroles d'origines diverses. En étudiant les conditions de ces synthèses, les chercheurs

s'aperçurent que les hydrocarbures lourds étaient facilement dégradés thermiquement en présence de nickel. Ce résultat incita Sabatier à déposer un brevet, en 1909, sur le cracking des fractions lourdes des pétroles en présence de fer et de nickel, fractions qui étaient transformées ainsi avec un rendement voisin de 75 %. Depuis, ces processus ont été perfectionnés, d'autres intéressants cette industrie ont été mis au point, ce qui permet d'avancer qu'environ 80 % des opérations de la pétrochimie sont catalytiques.

L'hydrogénation des corps gras – mélanges d'esters d'acides saturés et insaturés – a permis de modifier leurs propriétés physiques, en élevant par exemple leur point de fusion, ce qui autorise leur utilisation pour la fabrication du savon ou des bougies. En pratiquant une hydrogénation ménagée, on peut obtenir des graisses alimentaires (margarine).

De nombreux autres domaines profitent aussi des qualités des procédés catalytiques sur solides : industrie pharmaceutique, industrie des colorants, des détergents, des insecticides, des solvants, des parfums, industrie des polymères. Cette dernière utilise depuis longtemps l'hydrogénation pour la fabrication des nylons à partir du dinitrile adipique (l'hydrogénation des nitriles en présence d'ammoniac a été mise au point par G. Mignonac), ou encore l'hydrogénation des aromatiques pour accéder aux matières premières du polycaprolactame.

Les conséquences actuelles ou futures sont aussi nombreuses :

- *extension de la méthode de Fischer-Tropsch* (1926), à l'origine pour la préparation de carburants synthétiques à partir du gaz à l'eau et d'hydrogène, à haute pression et haute température, sur des catalyseurs à base de fer. Cette méthode conduit aussi, suivant les conditions, à divers produits organiques et est appliquée au gaz naturel. Il semble que cette réaction pourrait devenir l'une des plus importantes de l'industrie organique du futur



Paul Sabatier académicien.



Le laboratoire de Paul Sabatier dans les années 1920.



Le « Système Sabatier » : produire de l'eau dans la station spatiale, sans avoir à la transporter. © NASA.

pour transformer les matières premières issues des ressources renouvelables ;

- dans l'économie de l'hydrogène : cette remarque repose sur les travaux qui ont pour origine la suite des études du mécanisme de la catalyse. Sylvie T. Geyer, professeur au MIT, a abordé ces études en 1994 sur des monocristaux de nickel. À l'aide de processus sous vide très poussés et en suivant ceux-ci par des techniques spectroscopiques performantes, elle a pu montrer que l'hydrogène se distribuait dans le nickel, non seulement en surface, mais aussi en profondeur, ce qui permet son stockage ;
- en nanotechnologie, où la densité d'atomes du métal en surface est très élevée, favorisant ainsi l'interaction avec les substances organiques. Ainsi l'or, que l'on considérait comme inactif en catalyse, présente une telle activité sous forme de grains nanométriques ;
- en « chimie verte », où l'utilisation de réactions catalytiques est préconisée à la place des réactions stœchiométriques ;
- dans la protection de l'environnement, avec l'exemple des pots catalytiques des voitures, dont le principe a été étendu à la purification de l'air intérieur.

La NASA et le « Système Sabatier »

Pour montrer l'actualité des retombées des procédés Sabatier-Senderens, il faut citer la réaction d'hydrogénation des oxydes de carbone en méthane et eau. À l'origine, cette transformation permettait de valoriser le gaz à l'eau en augmentant son pouvoir calorifique et en éliminant la toxicité due au monoxyde CO.

Tout récemment aux États-Unis, une autre application de cette réaction a été développée par la NASA, mais cette fois en s'intéressant non pas au méthane produit, mais à l'eau, considérée jusqu'alors comme un produit secondaire ! L'approvisionnement en eau potable est en effet un problème majeur pour les astronautes de la Station spatiale internationale, approvisionnement qui était assuré par la navette spatiale dont l'arrêt de l'utilisation a accéléré la recherche de solutions de remplacement. Les chercheurs de la NASA ont eu l'idée d'utiliser ce qu'ils appellent le « Système Sabatier », à savoir l'hydrogénation du dioxyde de carbone émis par les astronautes pour obtenir de l'eau ; cette idée était confortée par le fait que les appareils nécessaires pour réaliser cette réaction étaient déjà présents à bord ainsi que l'hydrogène. Le méthane produit est envoyé à l'extérieur de l'engin [20].

Le « Système Sabatier » permet ainsi d'obtenir, à partir du dioxyde de carbone émis par les six astronautes, 2,5 tonnes d'eau potable par an. Cela permet de diminuer d'autant le poids des instruments transportés et d'augmenter la capacité de la station.

Paul Sabatier, l'humaniste

Il a déjà été dit combien notre illustre savant était doué pour toutes sortes d'arts : pianiste – capable de composer –, peintre – auteur de belles aquarelles –, il aimait également la littérature et la poésie. L'Académie des jeux floraux de Toulouse – vénérable institution littéraire fondée en 1323, qui avait été la première à récompenser Victor Hugo – l'accueillit en son sein, comme mainteneur.

Dans ses remerciements, prononcés en séance publique le 14 février 1909, et qui sont un petit chef d'œuvre d'expression française,

il s'exprime ainsi : « S'asseoir au milieu des poètes est une aventure quelque peu inattendue pour celui qui n'a coutume de fréquenter que les laboratoires et qui, familier de l'ancre de Vulcain, éprouve une timidité bien naturelle à pénétrer dans le palais d'Apollon. » Un peu plus loin, il poursuivait : « La science et la poésie ne sont point ennemies », et, comme scientifique attaché à l'expérimentation, témoin des luttes que se sont livrées au XIX^e siècle les partisans de la théorie atomique et ceux des équivalents, instruit lui-même des disputes que son interprétation des phénomènes catalytiques avait suscité, il proclame : « L'exemple du passé nous fait voir combien sont précaires et éphémères les théories scientifiques, étapes successives de la marche de l'homme vers la vérité. Leurs débris jalonnent l'histoire des sciences, et c'est pour l'orgueil humain une dure et salutaire leçon. Seuls les faits demeurent définitivement acquis. » Enfin, sa philosophie et ses croyances se retrouvent dans sa conclusion : « Parcelle infime dans l'œuvre immense du Créateur, l'homme ne pourra jamais avoir la clarté absolue de toute chose. »

Paul Sabatier avait survécu 43 ans à son épouse. Entouré de ses quatre filles, il mourut à Toulouse le 14 août 1941, à l'âge de 87 ans.



Paul Sabatier vers la fin de sa vie.

L'auteur souhaite dédier cet article à la mémoire de son maître Georges Mignonac, ancien élève et collaborateur de Paul Sabatier,

en souvenir de leurs nombreuses conversations sur ce savant, conversations qui ont nourri une partie de ce texte.

Notes et références

- [1] On lira avec profit les rares biographies de Paul Sabatier : Babonneau L., *Génies occitans de la Science*, 1947, Éditions E. Privat, Toulouse ; Partington J.R., Paul Sabatier, *Nature*, 1954, 174, p. 859 ; Nye M.J., *Dictionary of Scientific Biography*, 1975, XII, p. 46 ; Nye M.J., *Science in the Provinces*, University of California Press, 1986, p. 117 ; Wojtkowiak B., *Paul Sabatier, un Chimiste indépendant*, Éditions Jonas, Elbeuf-sur-Andelle, 1989 ; Lattes A., De l'hydrogénation catalytique à la théorie chimique de la catalyse, *C.R. Acad. Sci. Paris, Série IIc, Chimie*, 2000, 3, p. 705.
- [2] Sabatier P., *Recherches thermiques sur les sulfures*, Thèse n° 445, Paris, 1880.
- [3] *Centenaire Paul Sabatier, prix Nobel, membre de l'Institut : 1854-1954*, Éditions E. Privat, Toulouse, 1956.
- [4] Sabatier P., Sur les propriétés du persulfure d'hydrogène, *C.R. Chimie*, 1885, 100, p. 1585.
- [5] Sabatier P., Sur le sulfure de bore, *C.R. Chimie*, 1891, 112, p. 862.
- [6] Sabatier P., Sur le sélénure de silicium, *C.R. Chimie*, 1891, 113, p. 132.
- [7] Sabatier P., Sur l'acide nitrosodisulfonique, *C.R. Chimie*, 1896, 122, p. 1479.
- [8] Sabatier P., Sur la vitesse de transformation de l'acide métaphosphorique, *C.R. Chimie*, 1888, 106, p. 63.
- [9] Mond L., Langer C., Quincke F., Action of carbon monoxide on nickel, *J. Chem. Soc.*, 1890, 57, p. 749.
- [10] Berthelot M., *C.R. Chimie*, 1891, 112, p. 1343.
- [11] L'auteur remercie le professeur François Couderc, professeur d'université et diacre permanent, pour tous les renseignements que ce spécialiste de J.-B. Senderens a pu lui communiquer. Les deux articles référencés ci-après sont certainement les mieux renseignés sur la vie et les travaux de « l'abbé » : a) Couderc F., Varravaddheay O.-M., Paul Sabatier et l'abbé Jean-Baptiste Senderens, témoins lointains d'une « laïcité positive », *C.R. Chimie*, 2011, 14, p. 516 ; b) Couderc F., L'abbé

Jean-Baptiste Senderens, chimiste, collaborateur de Paul Sabatier, fondateur de l'école supérieure des sciences de l'ICT, *Bull. Litt. Eccl.*, 2009, CX, p. 133.

- [12] Sabatier P., Senderens J.-B., Sur le cuivre nitré, *C.R. Chimie*, 1892, 115, p. 236.
- [13] Moissan H., Moureu C., Action de l'acétylène sur le fer, le nickel et le cobalt réduits par l'hydrogène, *C.R. Chimie*, 1896, 122, p. 1240.
- [14] Sabatier P., Senderens J.-B., Action du nickel sur l'éthylène, *C.R. Chimie*, 1897, 124, p. 616.
- [15] Sabatier P., Senderens J.-B., Action du nickel sur l'éthylène, synthèse de l'éthane, *C.R. Chimie*, 1897, 124, p. 1358.
- [16] Sabatier P., Senderens J.-B., Hydrogénation de l'acétylène en présence de nickel, *C.R. Chimie*, 1899, 128, p. 1173.
- [17] Sabatier P., Senderens J.-B., Hydrogénations directes réalisées en présence de nickel réduit : préparation de l'hexahydrobenzène, *C.R. Chimie*, 1901, 132, p. 210.
- [18] Sabatier P., Mailhe A., Ethérification et saponification directe par catalyse, *C.R. Chimie*, 1911, 152, p. 494.
- [19] Sabatier P., Sur l'inversion du rôle des catalyseurs, *C.R. Chimie*, 1927, 185, p. 17.
- [20] Nimon J., *The Sabatier System: producing water on the space station*, International Space Station Program Science Office, 2011. Voir l'article sur www.nasa.gov/mission_pages/station/research/news/sabatier.html.



Armand Lattes

est professeur émérite à l'Université Paul Sabatier*.

* Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 9.
Courriel : lattes@chimie.ups-tlse.fr

Collection L'Actualité Chimique-Livres



Commandez-les sur
edition-sciences.com

La toxicologie : la multidisciplinarité au service de la sécurité sanitaire et environnementale

Éric Quéméneur, Emmanuel Lemazurier et Marie-Thérèse Ménager

Résumé

La toxicologie fournit les bases scientifiques de la compréhension et de l'évaluation des risques. Des données physiques, chimiques et biologiques complémentaires doivent être rassemblées pour construire l'analyse pluridisciplinaire qui permet d'établir les mesures techniques et législatives de protection de la santé publique et de la nature. Ainsi, la conscience du risque, l'espoir comme la peur du public dépendent en grande partie de l'expertise du toxicologue. En aidant à déterminer le rapport des risques et des bénéfices pour les nouvelles technologies, cette discipline devient aussi un enjeu croissant pour l'économie et la compétitivité. Si on peut se réjouir du regain d'intérêt pour la toxicologie, rappelons que c'est sa capacité à croiser les autres domaines scientifiques qui fait sa force et son intérêt. La multidisciplinarité représente aussi un atout pour son avenir.

Mots-clés

Toxicologie, évaluation des risques, interface chimie-biologie.

Abstract

Toxicology: a multidisciplinary approach for improving health and environmental safety

Toxicology provides the scientific bases to understand and evaluate risks. Complementary physical, chemical and biological data have to be gathered to establish that transversal analysis which helps to elaborate the appropriate technical and legal measures for protecting public health and environment. Thus, risk awareness, public confidence or fear largely depend on the toxicologist expertise. By helping to determine the risk/benefit ratio of new technologies, toxicology has also become a growing challenge for economy and competitiveness. If the renewed interest for toxicology is a reason for feeling satisfied, we nevertheless have to keep in mind that this is its ability to cross other scientific fields which makes its strength and interest. Thus, multidisciplinarity represents a real asset for its future.

Keywords

Toxicology, risks assessment, chemistry-biology interface.

Les attentes et les enjeux

La toxicologie est un domaine multidisciplinaire de la science qui étudie les effets délétères de facteurs exogènes sur les systèmes biologiques. Si sa finalité a été historiquement dictée par des besoins immédiats, liés à l'usage intentionnel ou subi des poisons d'origine naturelle, elle a ensuite évolué vers le besoin de protection des travailleurs, du public, puis de la nature, contre les substances chimiques exploitées ou fabriquées industriellement par l'homme.

Les objectifs de la toxicologie moderne sont multiples ; elle étudie :

- les propriétés physiques et chimiques des substances toxiques, notamment de celles produites par l'activité humaine ;
- les circonstances de leur contact avec l'organisme et le comportement des substances après ce contact ;
- les effets biologiques de l'exposition d'un organisme ou, de plus en plus, d'un groupe d'organismes au sein d'un écosystème ;
- les moyens de détecter/doser les substances dans les milieux biologiques et de les combattre (voies d'élimination, antidotes).

Ces différents aspects seront abordés tout au long de ce numéro spécial consacré à la toxicologie environnementale et humaine. On y retrouve de nombreux exemples où le croisement des disciplines scientifiques permet d'accroître la portée des conclusions et le taux de confiance dans celles-ci. Mais restons modestes, car elles témoignent aussi du chemin qu'il reste à parcourir pour que la toxicologie devienne réellement prédictive.

Multidisciplinaire dès l'origine

Les préoccupations en matière de toxicologie sont particulièrement anciennes. Le recours à des poisons d'origine végétale ou animale, puis chimiques pour la chasse, la guerre ou l'empoisonnement – une pratique autrefois répandue ! – a encouragé l'essor de recherches ciblées sur leurs effets et les moyens de s'en prémunir dont on retrouve des traces dès l'Antiquité grecque. Hippocrate, Nicandre de Colophon ou Dioscoride ont développé leurs observations toxicologiques au-delà de la seule pratique médicale, en utilisant l'ensemble des connaissances de leur époque en sciences naturelles et en chimie. Pendant les siècles suivants, la connaissance toxicologique reste traditionnelle et

transmise sans véritable rupture scientifique, ne permettant pas de gérer efficacement certaines grandes intoxications dévastatrices, comme par exemple celle liée aux alcaloïdes de l'ergot de seigle qui auraient tués 40 000 personnes en 994 en Aquitaine, ou les maladies professionnelles d'ouvriers tanneurs ou de mineurs particulièrement exposés aux oxydes métalliques.

Impossible dans un article traitant de la multidisciplinarité de ne pas rappeler que Paracelse (1493-1541), auteur si souvent cité de la première formulation officielle de la relation entre dose et effet (« *Toutes les choses sont poisons et rien n'est sans poison ; seule la dose fait qu'une chose n'est pas un poison* »), était un de ces savants polyvalents mélangeant plus ou moins empiriquement la médecine, l'astrologie et l'alchimie !

Aux XVII^e et XVIII^e siècles, plusieurs médecins sauront sortir du champ classique de leur spécialité pour établir le lien entre les pathologies observées chez les travailleurs et les expositions auxquelles ils sont confrontés, posant ainsi les bases de la toxicologie professionnelle. On pense naturellement à Bernardino Ramazzini (1633-1714), père de l'ergonomie, à John Hill⁽¹⁾ (1714-1775), médecin et botaniste, qui fut le premier à montrer un lien entre des substances de l'environnement et le développement du cancer (plus précisément entre prise de tabac et cancer nasal), ou à Percival Pott (1714-1788), chirurgien et anatomopathologiste, qui comprit le lien entre la forte incidence de cancers du scrotum chez les ramoneurs et le contact régulier avec des cordes saturées de suies de charbon – on sait aujourd'hui combien elle peuvent être riches en hydrocarbures aromatiques polycycliques, les fameux « HAP ». Mathieu Orfila (1787-1853) fut le pionnier de la toxicologie médico-légale en combinant ses compétences de médecin, de chimiste et de pharmacien. Déjà à cette époque, la toxicologie pouvait être un enjeu médiatique et juridique, comme illustré par la célèbre contro-



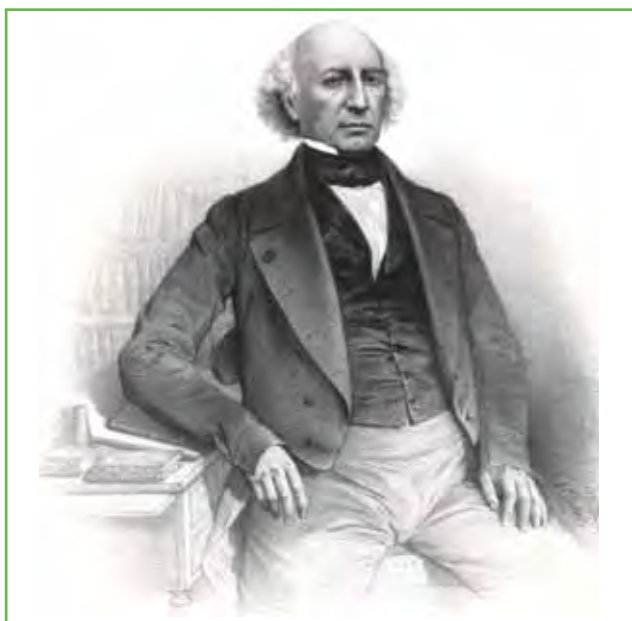
verse avec Raspail dans l'affaire Lafarge de 1840, une affaire d'empoisonnement au trioxyde d'arsenic qui marque aussi le premier débat sur l'apport et les limites de la chimie analytique.

La science des poisons est traditionnellement du ressort des pharmaciens, et leur formation a toujours inclus un solide cursus de chimie, de botanique et de physiologie. Sans surprise, c'est à un apothicaire parisien, Guy Simon, que l'on confia l'expertise des paquets de « poudre de succession » trouvés dans la cassette de l'amant de la Brinvilliers, l'empoisonneuse bien connue de l'affaire qui a provoqué l'ordonnance de 1682, base de notre législation des substances toxiques. Pour rester dans l'esprit de cet article sur la compétence multiple, on rappellera que les pharmaciens des armées françaises ont porté le titre de « pharmacien chimiste » entre 1965 et 2004 (depuis 1919 pour les pharmaciens de la Marine et depuis 1928 pour les « coloniaux »), traduisant le besoin de polyvalence dans leurs missions, notamment toxicologiques, au sein des laboratoires des arsenaux, des hôpitaux militaires ou d'autres services techniques spécialisés.

Avec l'émergence de la toxicologie environnementale, ce sont désormais les écologues⁽²⁾ qui rejoignent notre domaine scientifique. La sortie en 1962 de *Silent Spring* par Rachel Carson (1907-1964), une zoologiste et biologiste, a fortement contribué à la montée de l'écotoxicologie [1]. Bien que parfois approximative et ayant recours à des évidences plus anecdotiques que scientifiques, sa description des effets du DDT sur la faune a permis de mettre fin à l'utilisation disproportionnée de pesticides. Depuis, les écotoxicologues ont ouvert leur discipline à la chimie, à la physiologie et à la modélisation.

La convergence des toxicologies

Une évolution importante des deux dernières décennies a été l'apport des techniques modernes de la biologie (biologie cellulaire et moléculaire, biologie structurale, approches globales dites « omiques », etc.) au champ de la toxicologie/écotoxicologie. Il en a été de même dans le domaine de la chimie avec l'évolution considérable des méthodes d'analyse et la prise en compte de la spéciation chimique dans la relation structure/activité. La caractérisation des modes d'action est devenue prioritaire car elle permet de relier les effets observés à un corpus bibliographique en croissance rapide grâce aux progrès de la biologie et à la précision des mesures. À terme, l'espoir est évidemment de rationaliser la



Mathieu Orfila (Mateu Josep Bonaventura Orfila i Rotger, 1787-1853), pionnier de la toxicologie médico-légale.

classification des substances toxiques sur la base des mécanismes d'action et des relations entre structures chimiques et propriétés biologiques. Les recherches en cours montrent encore bien le fossé qu'il reste à combler pour prendre en compte les complexités de la spéciation dans les mélanges de substances dans les milieux biologiques et des régulations des systèmes biologiques.

Depuis quelques années, on observe une prise de conscience mondiale de l'importance de la toxicologie et, plus généralement, de l'interaction entre environnement et santé [2]. La mise en œuvre de REACH en Europe⁽³⁾, le renforcement des processus de contrôle des produits pharmaceutiques ou alimentaires, la globalisation des enjeux liés à la prolifération des produits toxiques et aux filières déchets, sont autant de défis à relever pour la toxicologie. En France, depuis 2007, le Grenelle de l'Environnement a renforcé les travaux de recherche dans le domaine de la toxicologie et diverses initiatives se sont structurées dans les établissements publics de recherche et les universités.

Parallèlement, le Plan national Santé Environnement (PNSE) et la Stratégie nationale de Recherche et d'Innovation (SNRI) ont insisté sur le besoin de développer la toxicologie en France, et de nombreux projets de recherche ont été financés dans le cadre de l'ANR. Plusieurs programmes d'envergure nationale ont contribué à l'avancement des connaissances sur la toxicité d'une large palette d'agents, allant des perturbateurs endocriniens aux radionucléides, aux nanoparticules, au chlordécone, etc. Pour illustrer quelques approches pluridisciplinaires, signalons d'une part l'expertise collective « Reproduction et environnement » sur l'effet des perturbateurs endocriniens destinée aux professionnels de la santé [3], et d'autre part l'ouvrage de synthèse des résultats obtenus par les programmes « Toxicologie nucléaire environnementale » et « EnvirHom », destiné aux étudiants, enseignants et responsables de la biovigilance sanitaire et environnementale [4].

Aux États-Unis, le *National Toxicology Program*, soutenu financièrement dès 2004 par l'Agence de protection environnementale (EPA), a vocation à « développer une vision à long terme pour les essais toxicologiques ainsi qu'un plan stratégique pour implémenter cette vision » [5]. Les défis identifiés sont le très grand nombre de composés à tester, le gain en efficacité économique et l'apport des technologies pour « humaniser » les données. Cette dernière notion est primordiale car l'essentiel du corpus toxicologique, notamment pour les nouvelles substances, est établi à l'aide de modèles non humains. Les méthodologies modernes, notamment celles issues de la toxicogénomique, sont porteuses d'une attente majeure : celle de pouvoir analyser ces données expérimentales initiales dans une perspective plus globale et extrapolable à l'homme.

En fait, toxicologie et écotoxicologie évoluent désormais dans des logiques convergentes sur le plan scientifique. Le rapport récent d'un groupe de travail sous l'égide du Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche a mis en évidence les éléments qui leur permettront de partager des concepts, des méthodes et des plates-formes technologiques [6]. Les questions communes concernent « les mécanismes d'accessibilité et d'action des agents chimiques, ou de certains agents physiques, sur les organismes vivants et la définition de biomarqueurs pertinents. » Toutes les toxicologies ont pour enjeu commun d'accroître leur capacité prédictive en améliorant leur capacité à intégrer les mécanismes d'action aux différents niveaux d'organisation du vivant, du moléculaire au système (population ou écosystème).

Approcher les conditions réelles de l'exposition

Actuellement, la toxicologie s'appuie largement sur l'extrapolation des données obtenues pour des substances pures, à doses relativement fortes et dans des modèles animaux. Cela suscite évidemment des débats et les recherches abordent les trois grands défis qu'il faudra relever pour garantir la pertinence de ces extrapolations.

Le premier est la non-linéarité des relations entre doses et effets. On évoque classiquement Paracelse comme le premier à avoir pointé une dose où toute substance devient poison. Toutefois, définir une valeur seuil de dose caractérisant les effets délétères à court terme ne suffit pas. Le chlorure de vinyle, par exemple, est sans effet apparent à dose très élevée, mais un hépatotoxique puissant à dose élevée et un cancérigène à longue latence à faible dose. Caractériser les mécanismes permet de distinguer les diverses composantes d'un schéma toxicologique souvent complexe. Il faut aussi prendre en compte les mécanismes susceptibles de se produire lors d'une exposition chronique à faible dose, notamment pour les substances bio-accumulables ou génotoxiques.

Le second défi concerne les modèles animaux. Dans la tradition de physiologie expérimentale de Claude Bernard, les toxicologues ont largement recours au modèle animal pour déterminer les doses et les mécanismes toxiques. On sait toutefois combien il faut être prudent dans l'extrapolation à l'homme de certains résultats obtenus dans des modèles très (trop ?) sensibles. On peut notamment penser au cas des mutagènes ou des reprotoxiques chez le rat. Autre exemple : la réglementation prévoit que l'on se prononce sur le caractère tératogène d'une substance à partir de données sur trois espèces. L'écotoxicologie s'appuie également sur des espèces sensibles. Elle est donc confrontée aux mêmes enjeux de spécificité des réponses biologiques et d'extrapolation aux espèces « normales » ou aux écosystèmes. Pour des raisons éthiques [7] et économiques, les modèles expérimentaux sont en évolution profonde [8]. D'une part, l'application réelle de l'approche « 3R » (raffinement, réduction, remplacement) est en train de changer la donne pour le recours à l'animal ; elle va stimuler l'interaction entre toxicologue et physiologiste. D'autre part, le développement des modèles « alternatifs » à l'expérimentation animale, principalement à base de cellules, de systèmes biochimiques ou de modèles mathématiques, va renforcer le lien avec les biologistes cellulaires et les biotechnologues.

Le troisième défi concerne les substances en mélange. En effet, les toxiques n'agissent jamais seuls et il est difficile, voire aventureux, de prévoir les interactions entre substances ou entre mécanismes de réponse. Ce sujet ambitieux va également mobiliser des disciplines connexes comme la chimie analytique ou la modélisation des systèmes.

La science, le commerce et la loi

Les toxicologues ont toujours eu une responsabilité sociale importante car leur savoir – la connaissance de ce qui est dangereux et risqué, ainsi que les moyens de s'en prémunir – est au cœur de ce que le citoyen attend d'une société organisée, garantissant sa sécurité à court et moyen termes. C'est ainsi que se sont développées les réglementations, la science étant chargée d'en poser les bases rationnelles. Heureusement, c'est aussi sur la science que l'on devrait s'appuyer pour établir les éventuelles relations causales et les responsabilités en cas d'intoxication. Le nécessaire dialogue entre juristes et toxicologues requiert, une fois de plus, la pratique de la multidisciplinarité.



© Wikimedia/Lamiot.

Cette petite bille de plomb correspondait à la dose de plomb à ne pas dépasser dans la nourriture, pour 37 jours, pour un être humain adulte avant 2006. Depuis (en 2006), l'OMS a réduit la « dose hebdomadaire tolérable » (DHT) pour le plomb à 25 µg/kg de poids, soit une dose journalière tolérable (DJT) de 3,6 µg/kg pc/j.

Les échanges commerciaux ont été un autre puissant moteur du développement de la discipline car il est important de définir des règles communes face aux risques. Ainsi, la toxicologie est fortement associée au besoin pour les États de se doter d'instruments d'encadrement standardisés des dangers et des expositions aux produits chimiques. Des définitions légales et des seuils pour les effets toxiques ont dû être établis. Par exemple, des substances ont été définies comme « toxiques » ou « très toxiques » sur la base de la valeur de leur dose létale médiane (DL50), permettant d'étiqueter les produits les contenant et de prévenir les utilisateurs. Néanmoins, des habitudes moins quantitatives ont été maintenues (produits réputés toxiques mais sans valeur seuil), pouvant conduire à des situations embarrassantes.

De plus, la dose létale médiane (DL50), ou concentration létale médiane (CL50), est un indicateur certes quantitatif de la toxicité d'une substance à court terme, mais ne renseigne pas sur les effets non létaux ou les conséquences d'une exposition prolongée à faible dose.

En Europe, une trop grande variété de systèmes de classification toxicologique et de réglementations avait été considérée comme un handicap pour l'échange commercial. En 1992, l'Union européenne éditait le 7^e amendement de la Directive sur la classification, l'emballage et l'étiquetage, afin d'harmoniser les informations toxicologiques sur les produits utilisés en médecine humaine et vétérinaire, en cosmétique, en alimentation humaine et animale, et en agriculture. La majorité des substances ne disposant pas de données solides quant à leurs propriétés toxicologiques, une évolution naturelle s'est faite au cours de la décennie suivante, culminant avec la publication du règlement REACH en 2008, qui rend obligatoire l'évaluation du risque pour toutes les substances utilisées dans l'Union, de façon unifiée et incluant aussi le risque pour l'environnement [9]. Le successeur de REACH au niveau mondial sera vraisemblablement le système GHS⁽⁴⁾ développé par les Nations unies. Confirmant l'importance économique croissante de la toxicologie, l'OCDE accompagne le mouvement en développant des propositions pour la classification des dangers sanitaires et écologiques, et des guides de standardisation pour les nombreux tests de toxicité [10].

La contrepartie d'une inscription réglementaire est que toute erreur dans l'évaluation toxicologique devient difficile à changer en raison de l'inertie inévitable d'un tel système et pourrait même avoir des effets à long terme sur la disponibilité de certaines substances, sans parler des substitutions de produits autorisés par des alternatives réputées moins toxiques mais sur des bases moins fiables.

La toxicologie dans le processus d'analyse des risques

De nombreuses définitions ont été données pour l'analyse des risques ; la nôtre serait la démarche scientifique mise en œuvre dans le but d'identifier les dangers, d'apprécier la probabilité et les conséquences des expositions, de les gérer opérationnellement et de communiquer à leur propos. Cette définition possède le mérite de présenter clairement les trois composantes de l'analyse de risque : l'évaluation du danger, la gestion de l'exposition et la communication. Les principaux défis de l'analyse de risque sont donc à la fois scientifiques et organisationnels [11]. La multidisciplinarité, une fois de plus !

Le Conseil américain de la recherche (NRC), avec son rapport *Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy* dit aussi *Tox21*, a joué un rôle important dans la rénovation de la toxicologie [12]. Ce document analyse comment les avancées technologiques, notamment la toxicogénomique ou la toxicologie computationnelle, vont changer la façon dont les études seront conduites, tant pour la toxicologie humaine qu'environnementale. Il soulève aussi des questions pertinentes sur la façon dont les données issues de ces technologies vont pouvoir être utilisées au mieux et leurs limites. *Tox21* encourage à évoluer de l'approche basée sur des critères cliniques (il n'est pas facile de traduire les fameux « endpoints ») chez l'animal à l'étude des perturbations de réponses cellulaires critiques dans des lignées humaines. Le principal challenge est de relier quantitativement ces perturbations cellulaires à la physiopathologie. La liaison peut se faire en renforçant la modélisation pharmacocinétique couplée à la physiologie (PBPK), la pertinence des biomarqueurs, et le recours aux essais à haut débit pour rationaliser et mieux cibler les essais *in vivo*. On pourrait ainsi évoluer vers une approche unifiée de l'analyse dose-réponse en s'appuyant sur le mode d'action et en considérant l'exposition et la vulnérabilité, plutôt que les seules évolutions vers la pathologie.

Une question centrale dans l'extrapolation du danger au risque est la prise en compte de la variabilité biologique (extrapolation inter-espèces, différences interindividuelles, etc.). La toxicologie devra aussi apporter des mesures plus explicites – et parfois plus résolutes – afin d'inclure les incertitudes dans les mesures. Un point de passage essentiel pour aborder les conséquences des expositions multiples et le cumul des risques.

Le rapport *Science and decisions: advancing risk assessment* publié en 2009 par le NRC [13] apporte encore plus de pragmatisme à l'approche initiée par *Tox21*. Si plusieurs constats et conclusions sont communs avec ce dernier, le rapport de 2009 rappelle le besoin d'une approche coût-bénéfice.

Le besoin d'interaction entre sciences « dures » et sciences humaines et sociales

L'objectif global des études toxicologiques est la protection de la santé humaine et de l'environnement, mais des

équilibres doivent être trouvés entre précaution et action, entre risque mesurable et risque ressenti, voire entre menace et risque fantasmé. La réponse par les sciences « dures » peut alors s'avérer insuffisante et il faut aborder les problèmes de représentation du risque. C'est vrai que la conscience de l'impact des activités industrielles sur l'environnement est relativement récente et qu'elle aura été déclenchée par des inconsciences graves dans l'usage des produits chimiques (amiante, DDT ou chlordécone, mercure à Minamata, etc.) ou par des accidents industriels majeurs (Bhopal, Tchernobyl, Fukushima). Le toxicologue est embarrassé lorsqu'il s'agit de comparer ou de relativiser un danger d'origine technologique et celui d'origine naturelle. Progresser dans ces domaines devient particulièrement critique pour les nouvelles substances chimiques, à l'instar des débats récents sur les nanomatériaux ou les produits phytosanitaires.

Ainsi, si la multidisciplinarité entre les différentes disciplines des sciences dures a fait ses preuves, le nouveau challenge est la mise en place d'interactions avec différentes composantes des sciences humaines et sociales. À cet égard, il faut mentionner l'initiative lancée début 2012 par la Mission interdisciplinarité du CNRS sur le thème « Nucléaire : énergie, environnement, déchets et société » (NEEDS) afin de susciter une approche fédérée entre sciences du vivant, de la matière, de l'ingénieur et de la société.



Retour vers la chimie

La toxicologie peut et doit maintenant contribuer à la mise en place d'une chimie durable dans laquelle la sécurité d'une substance pourra être prédite dès sa conception, mesurée à chaque étape de son développement et anticipant son cycle de vie (élimination sous forme brute ou de métabolites). Les efforts se concentreront sur les outils d'analyse repoussant certes les limites de détection et les complexités de milieux, tout en prenant en compte les progrès de la biologie afin d'en améliorer la signification. L'approche coût-bénéfice est un concept instable, en évolution rapide, mais viable si l'on met en place des stratégies de criblage toxicologique précoce et de substitution efficace. L'interface élaborée au fil du temps entre la chimie et la biologie s'est largement renforcée ces dernières années dans le cadre de programmes pluridisciplinaires dédiés. Nous espérons que les illustrations proposées au travers des articles de ce numéro spécial offriront aux lecteurs une perception élargie de l'apport de la toxicologie à un développement industriel plus sûr.

Notes et références

- (1) À ne pas confondre avec Archibald Hill (1886-1977), prix Nobel de médecine 1922, qui a laissé son nom à la courbe sigmoïde de saturation de l'hémoglobine par l'oxygène et à son coefficient de coopérativité.
 - (2) *Écologie* : spécialiste de l'écologie, à ne pas confondre avec écologiste.
 - (3) *REACH* : Règlement CE n° 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances, instituant une Agence européenne des produits chimiques, modifiant la directive 1999/45/CE et abrogeant le règlement (CEE) n° 793/93 du Conseil et le règlement (CE) n° 1488/94 de la Commission ainsi que la directive 76/769/CEE du Conseil et les directives 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE et 2000/21/CE de la Commission.
 - (4) GHS : Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals.
 - (5) Carson R., *Silent Spring*, Houghton Mifflin Ed., **1962**. Publication initiale dans trois numéros de juin 1962 du magazine *The New Yorker*.
 - (6) *Public Availability of Data on EU High Production Volume Chemicals* (données publiques sur les substances chimiques produites en grandes quantités dans l'Union européenne), Centre commun de recherche de la Commission européenne, EUR 18996.
 - (7) *Reproduction et environnement*, Expertise collective Inserm, Inserm Ed., **2011**.
 - (8) Ménager M.T., Garnier-Laplace J., Goyffon M., *Toxicologie nucléaire environnementale et humaine*, Lavoisier, **2009**.
 - (9) *A national toxicology program for the 21st century: a roadmap for the future*, NTP, **2004** (<http://ntp.niehs.nih.gov/files/NTPrdmp.pdf>) ; *Current directions and evolving strategies: Good science for good decisions*, NTP, **2004** (http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/main_pages/PUBS/2004CurrentDirections.pdf) ; FDA US Department of health and human services, Food and Drug Administration, March **2004**.
 - (10) *Rapport du groupe de travail sur la stratégie nationale de recherche en toxicologie et écotoxicologie*, MESR/DGRI/SSRI, mars **2010** (http://media.enseignementsup-recherche.gouv.fr/file/2010/95/0/Rapport_Tox-ecotox-v6final_148950.pdf).
 - (11) Directive 2010/63/UE du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques (JOCE du 20/10/2010), en cours de transposition dans le droit français.
 - (12) *Proc. 6th World congress on alternatives & animal use in the life sciences*, AATEX 14, Special issue, 475-782, August 21-25 **2007**, Tokyo, Japon.
 - (13) Regulation (EC) n° 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of the 21 October **2009** concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC* Practical guide 1: How to report *in vitro* data, Ref. ECHA-10-B-04-EN.
 - (14) Internationally harmonized processes for test method evaluation, validation and regulatory acceptance: The role of OECD guidance document 34 ; *Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test methods for hazard assessment*, OECD Environment, Health and Safety Publications, **2005**, Series on Testing and Assessment n° 34, ENV/JM/MONO(2005)/14 (www.oecd.org/env/testguidelines).
 - (15) Rodricks J., Levy J., Science and decisions: advancing toxicology to advance risk assessment, *Toxicol. Sci.*, **2012**, doi : 10.1093/toxsci/kfs246.
 - (16) *Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy*, National Research Council, Washington DC, The National Academies Press, **2007**.
 - (17) *Science and decisions: advancing risk assessment*, National Research Council, Washington DC, The National Academies Press, **2009**.
- Voir aussi : Russell W.M.S., Burch, R.L., *The Principles of Humane Experimental Technique*, Methuen, Londres, **1959**. Ré-édité par UFAW, 1992 (8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts EN6 3QD UK).



E. Quéméneur



M.-T. Ménager



E. Lemazurier

Eric Quéméneur est directeur du Programme Toxicologie du CEA et adjoint scientifique au directeur des sciences du vivant, et **Marie-Thérèse Ménager**, coordinatrice de programmes (toxicologie, NRBC-Bio, technologies pour la santé), au CEA, Direction des Sciences du vivant*.

Emmanuel Lemazurier est toxicologue, chef de projet au sein de la Direction Scientifique de l'INERIS**.

* CEA Direction des Sciences du vivant, Route du Panorama, BP 6, F-92265 Fontenay-aux-Roses.

Courriel : marie-therese.menager@cea.fr

** INERIS, Parc technologique Alata, BP 2, F-60550 Verneuil-en-Halatte. Courriel : emmanuel.lemazurier@ineris.fr

Glossaire

Toxicologie environnementale et humaine

Bioaccumulation : accumulation d'un élément dans des structures tissulaires ou cellulaires particulières pouvant conduire à des concentrations locales différant entre elles d'un à plusieurs ordres de grandeur.

Biodisponibilité : fraction de la quantité totale ou de la concentration d'une espèce chimique dans l'environnement (ou dans un organisme) potentiellement disponible pour une accumulation dans un organisme vivant (ou dans un organe). Une substance chimique est dite biodisponible si elle se présente sous une forme qui peut être assimilée ou absorbée par les végétaux et les animaux.

Biomarqueur : indicateur signalant un événement dans un système biologique ou un échantillon et fournissant une mesure de l'exposition, l'effet ou la susceptibilité. Un tel indicateur peut être de nature chimique, biochimique, physiologique, comportementale ou toute autre altération au sein d'un organisme.

- **Biomarqueur d'atteinte tissulaire** : biomarqueur qui sert à évaluer un changement biologique ou biochimique dans les cellules ou les tissus cibles résultant de l'action d'un polluant, ce changement constituant une étape dans le processus pathologique menant à la maladie. Ce type de biomarqueur vise à identifier une manifestation d'effets néfastes pour la santé.

- **Biomarqueur d'exposition** : biomarqueur qui relie l'exposition à un **xénobiotique** aux concentrations de cette substance ou de ses métabolites effectivement présentes dans l'organisme. Il est généralement mesuré dans le sang ou les excréta.

- **Biomarqueur de susceptibilité** : biomarqueur qui indique une capacité inhérente ou acquise d'un organisme à répondre à l'exposition à une substance spécifique.

Biota : ensemble des êtres vivants (faune et flore) d'une région ou d'une période géologique.

Canal ionique : protéine située dans la membrane cellulaire et formant un canal qui permet sélectivement à certains ions (principalement des ions sodium, potassium, calcium et chlorure) d'entrer ou de sortir de la cellule.

Cancérigène, cancérigène, carcinogène : désigne un agent chimique ou physique lorsqu'une exposition à cet agent entraîne une augmentation de l'**incidence** de cancers.

Carcinome : cancer des cellules **épithéliales**.

Décorporation : traitement visant à éliminer de l'organisme au moyen d'une substance chimique des éléments radioactifs ou toxiques qui ont été incorporés (JO, 22/02/2009). Le **décorporant** est une substance capable d'effectuer cette extraction.

Dose d'une substance : quantité totale (en mole ou gramme) de la substance étudiée administrée, incorporée ou absorbée par un organisme, un organe, un tissu, pendant un temps donné.

Écosystème : unité écologique de base, constituée par l'association de deux composantes en constante interaction, le biotope et la biocénose.

Écotoxicité : toxicité pour l'**écosystème**. Terme employé dans l'évaluation du risque écologique.

Écotoxicologie : discipline dont l'objet est l'étude des polluants dans les écosystèmes. L'écotoxicologie comporte un volet descriptif qui consiste en l'analyse de la circulation des polluants au sein des biocénoses et entre celles-ci et les composants des biotopes. L'écotoxicologie possède aussi un volet causal, dont le but est de connaître et comprendre les conséquences écologiques de l'action des polluants sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes.

Endogène : qualifie un phénomène ou une substance qui prend naissance à l'intérieur d'un corps, qui est dû à une cause interne.

Épidémiologie : science qui étudie les rapports entre les pathologies et les divers facteurs susceptibles d'exercer une influence sur leur fréquence, leur distribution et leur évolution.

Épigénétique : se dit d'une modification transmissible et réversible de l'expression des gènes ne s'accompagnant pas de changements des séquences de leur ADN. Ces modifications peuvent être dues à des changements sur des protéines liées à l'ADN, comme les histones, des réactions chimiques sur l'ADN (réactions de méthylation). Ceci peut se produire spontanément, en réponse à l'environnement.

Épithélium : revêtement cellulaire formé d'une ou plusieurs couches de cellules recouvrant une surface externe ou l'intérieur d'une cavité.

Exogène : qui provient de l'extérieur de l'organisme, par opposition à **endogène**.

Exposition aiguë : exposition reçue pendant une brève durée de temps. S'oppose à **exposition chronique**.

Exposition chronique : exposition prolongée, d'une durée significative par rapport à la durée de vie de l'organisme étudié. Généralement associée à la notion d'exposition continue à une faible concentration de polluant. S'oppose à **exposition aiguë**.

Exposition externe : voie d'atteinte liée aux radionucléides présents dans les milieux de vie et émettant des rayonnements pouvant atteindre l'organisme.

Facteur de concentration : grandeur permettant d'évaluer la **bioaccumulation** d'un polluant par un organisme vivant. Il se définit comme le rapport entre la concentration du polluant dans l'organisme et sa concentration dans le biotope (eau pour un système aquatique).

Génomique : étude de la structure, du fonctionnement et de l'évolution des génomes des organismes vivants. Elle regroupe des analyses qui vont de l'inventaire, de la cartographie physique (représentation de la disposition des gènes sur les chromosomes) et de l'identification des gènes, à l'étude de leurs structures (génomique structurale) et à celle de leur expression et donc de leur fonction. L'informatique y joue un rôle important, par exemple pour classer les gènes en fonction des homologies de leurs séquences le long des molécules d'ADN.

Génotoxique : molécule exerçant une toxicité vis-à-vis des gènes car entraînant des dommages de l'ADN.

Germinal (cellule ou lignée) : désigne les cellules reproductrices. S'oppose à somatique.

GHS : globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (**SGH** en français).

Glomérule : composant anatomique élémentaire du rein, faisant partie du **néphron**.

Hème : un hème est un complexe de fer lié à une porphyrine : ce ligand biologique particulier a pour structure de base un macrocycle tétra-pyrrolique. Mots de même racine : hémnique, le préfixe hém (ex : hémoprotéine, hémoglobine...).

Hépatocyte : cellules fonctionnelles du foie, dont les principales fonctions sont la synthèse du glycogène, la néoglucogenèse à partir des lipides, la dégradation de l'hémoglobine, la sécrétion exocrine de bile, et le catabolisme ou la neutralisation de nombreuses substances toxiques dont l'alcool.

Homéostasie : capacité autorégulée d'une cellule ou d'un organisme à conserver un fonctionnement satisfaisant et un équilibre entre le compartiment intracellulaire (milieu intérieur) et le compartiment extracellulaire (milieu extérieur) lors d'une variation d'un paramètre.

Hormèse ou **phénomène d'hormesis** : phénomène de stimulation (sens de la racine grecque) d'une propriété biologique à faible dose d'exposition d'un agent extérieur et d'inhibition à forte dose avec une zone intermédiaire de non-réponse ou de réponse atténuée. C'est la résultante de plusieurs mécanismes distincts dont l'importance relative varie avec la dose.

Incidence : nombre de nouveaux cas identifiés d'une affection (exp. cancer) sur une période, généralement un an, et dans une population donnée.

LOEC : « lowest observed effect concentration ». Lors de l'établissement de relations concentrations-effets, la LOEC est la plus petite concentration testée conduisant à un effet statistiquement significatif par rapport au groupe témoin, non exposé.

NOEC : « no-observed effect concentration ».

Lyse : destruction d'agents biologiques (d'une cellule dans la cytolyse) sous l'action d'agents physiques, chimiques ou biologiques.

Matrice : en biologie, la matière (ou le tissu) dans laquelle des structures plus spécialisées sont incorporées.

Mutagenèse : création de mutations dans le génome de la descendance d'un organisme par exposition de l'ADN à un agent chimique ou physique (exp. rayonnements γ), à un virus intégratif ou à un élément transposable.

Néphron : unité fonctionnelle élémentaire du rein (qui en compte environ un million) composée du **glomérule** et du tubule. La **néphropathie** est une affection du rein.

NOEC : voir **LOEC**.

« **Omiques** » ou « **omics** » : approches globales d'analyses post-génomiques réalisées au niveau des ARN messagers (transcriptome), des protéines (protéome) et des métabolites (métabolome). Ces approches sont basées sur l'analyse comparative de jeux de données volumineux. La mise en relation de tous ces niveaux représente la biologie des systèmes ou la biologie intégrative.

Polluant : substance naturelle ou d'origine artificielle que l'homme introduit dans un biotope donné dont elle était absente ou dont il modifie et augmente la teneur dans l'eau, l'air ou les sols dans le cas où elle y était présente.

Protéomique : ensemble de recherches et méthodes qui permettent d'accéder directement au protéome (voir « **omiques** »). L'un des objectifs de cette discipline, basée sur l'identification et la quantification à large échelle des protéines, est de réaliser l'inventaire de celles présentes dans un type cellulaire donné à un instant et dans un environnement donné. Elle étudie également la distribution des protéines dans différents compartiments ou sous-structures de la cellule, combinant électrophorèse, analyse peptidique par spectrométrie de masse et utilisation de bases de données.

Règlement CLP : règlement (CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et mélanges.

Règlement REACH : règlement (CE) n° 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances, instituant une Agence européenne des produits chimiques (ECHA). Entré en vigueur le 1^{er} juin 2007, REACH vise à assurer un niveau élevé de protection de la santé humaine et

de l'environnement contre les risques que peuvent poser les produits chimiques.

Relation dose-effet ou **dose-réponse** : relation entre la dose d'exposition et l'intensité de la réponse observée qui s'exprime par une fonction mathématique. La relation dose-effet est en général exprimée en pourcentage de variation par rapport à l'intensité de réponse observée chez le groupe témoin (non exposé).

Risque écologique : probabilité d'incidence et sévérité des effets susceptibles d'apparaître dans tout ou partie de l'écosystème suite à l'exposition réelle ou prévue aux éléments et/ou agents stressants d'intérêt. Un risque avéré conduit à des conséquences écologiques, c'est-à-dire à des modifications de la structure et du fonctionnement de l'écosystème.

Risque sanitaire : probabilité d'incidence et sévérité des effets susceptibles d'apparaître chez l'homme (ou un être vivant) à l'échelle d'un individu ou d'une population suite à l'exposition réelle ou prévue aux éléments et/ou agents stressants d'intérêt. Un risque avéré conduit à des conséquences sanitaires, c'est-à-dire à l'apparition de manifestations pathologiques.

SGH : Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage (**GHS** en anglais).

Spéciation : selon les recommandations de l'IUPAC, une « espèce chimique » ou « spéciation » d'un élément est une « forme spécifique d'un élément, définie par sa composition isotopique, son état électronique ou état d'oxydation et/ou sa structure complexe ou moléculaire ».

Substances CMR : substances cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction, en application de la Directive 67/548/CEE.

Substances PBT : substances persistantes, bio-accumulatives et toxiques au sens de l'annexe XIII du règlement REACH (substances **vPvB** : substances très (very) persistantes et très (very) bio-accumulatives).

Toxicité : propriété d'une substance chimique introduite dans un organisme, d'engendrer temporairement ou durablement des troubles de certaines fonctions à l'un ou l'autre des niveaux d'organisation du vivant. La toxicité d'un élément est en général associée aux conditions d'exposition incluant la voie d'administration ou d'absorption, sa durée (chronique ou fractionnée) et la dose (unique ou fractionnée). Pour un organisme dont l'espèce et l'état physiologique sont connus, elle est décrite par la nature et la sévérité des dommages engendrés et le temps nécessaire pour conduire à ces dommages. Ceux-ci peuvent affecter différentes cibles : membranes, organites cellulaires, noyau, tissus, organes.

Valeur guide : valeur de référence pour une grandeur (concentration en un élément donné), destinée à servir d'aide à la réflexion ou à la décision. La valeur guide est en règle générale recommandée par une autorité, sans obligation légale, utilisée (avec un jugement professionnel) lors de l'évaluation d'un site pollué. Elle constitue un objectif que les États membres doivent s'efforcer d'atteindre.

VTR (valeur toxicologique de référence) : appellation générique regroupant tous les types d'indices toxicologiques qui permettent d'établir une relation dose-réponse pour une substance chimique stable (par exp. : dose journalière admissible, concentration admissible).

Xénobiotique : substance étrangère à la biosphère (du grec ξένος « étranger », et βίος « vie »). Dans le domaine de la toxicologie, ce terme peut désigner tout composé chimique exogène et susceptible d'interférer avec le fonctionnement normal d'un organisme vivant, notamment à très faible dose, parce qu'il n'y pas eu de mécanisme adaptatif face à cette substance au cours de l'évolution.



Les définitions données ici, de termes que l'on retrouve dans les articles de ce dossier ou que nous avons trouvés utiles dans ce contexte, ont été pour la plupart extraites de :

Toxicologie nucléaire environnementale et humaine

Coordonné par Marie-Thérèse Ménager, Jacqueline Garnier-Laplace et Max Goyffon

© Lavoisier, 2009

Cet ouvrage s'adresse à une large communauté de scientifiques : chercheurs, ingénieurs, professionnels et aux étudiants des différentes disciplines biologiques et chimiques du large domaine de l'environnement et du monde de la santé.

La spéciation en toxicologie

Carole Bresson, Frédéric Chartier et Éric Ansoborlo

Résumé La connaissance de la spéciation des éléments à l'état de trace et d'ultratrace dans les milieux biologiques et environnementaux est indispensable pour obtenir des informations sur leur mode d'action et leur devenir dans la biosphère et la géosphère. La détermination de la spéciation d'un élément dans un milieu donné est un véritable défi et nécessite de connaître les différentes approches méthodologiques et outils analytiques dédiés. Les principales techniques analytiques permettant d'obtenir des informations structurales, moléculaires, élémentaires et isotopiques sont décrites dans cet article. Un bref descriptif des techniques séparatives couplées aux techniques spectrométriques est reporté. Les techniques d'imagerie, dont l'objectif est d'établir la distribution spatiale *in situ* des éléments et des molécules dans divers échantillons solides, sont également abordées. La dernière partie traite du développement des microsystèmes analytiques dans la mesure où ils ouvrent des perspectives primordiales pour l'analyse de spéciation de faibles quantités d'échantillons.

Mots-clés Toxicologie, spéciation théorique, spéciation analytique, techniques d'analyses, microsystèmes analytiques.

Abstract **The speciation in toxicology**
The knowledge of the speciation of elements at trace and ultra-trace level in biological and environmental media is essential to gather information on their action mode and their fate in the biosphere and geosphere. Determining the speciation of an element in a given medium is a great challenge and requires the knowledge of the different methodological approaches and dedicated analytical tools. The main analytical techniques to obtain structural, molecular, elemental and isotopic information are described in this article. A brief description of separation techniques coupled to spectrometric techniques is reported. Imaging techniques which aim to obtain the *in situ* spatial distribution of elements and molecules in various solid samples are also discussed. The last part deals with the development of micro-analytical systems since they open crucial perspectives to speciation analysis of low sample amounts.

Keywords Toxicology, theoretical speciation, analytical speciation, analytical techniques, based-chips analytical systems.

Les enjeux de la spéciation en toxicologie

L'une des préoccupations sociétales majeures actuelles est de connaître l'impact et le devenir des métaux et des radionucléides (RN) générés par la recherche et l'industrie. La détermination de la concentration totale d'un élément n'est pas suffisante pour déterminer cet impact, la biodisponibilité d'un élément vis-à-vis d'organismes végétaux, animaux ou humains, sa mobilité, son accumulation et sa toxicité étant en effet gouvernées par sa spéciation [1]. La **spéciation**⁽¹⁾ désigne la distribution d'un élément selon différentes espèces chimiques dans un système, une **espèce chimique** étant la forme que peut prendre un élément et est définie par sa composition isotopique, son état électronique ou d'oxydation et/ou sa structure moléculaire ou complexe. Selon le domaine considéré, la spéciation peut décrire des processus différents. La **spéciation chimique**, de nature statique, décrit le processus opérationnel d'identification et de quantification d'une espèce chimique contenant un élément donné. La **spéciation biologique ou environnementale**, de nature plus dynamique, concerne la transformation d'une espèce en une autre par un processus dynamique

réactionnel. Dans le contexte de la toxicologie, de nombreuses questions vont alors se poser : sous quelle forme physico-chimique se trouve un élément avant incorporation/ingestion/transfert vers un organisme vivant quel qu'il soit ? Sous quelle forme sera-t-il transporté, accumulé et éliminé dans cet organisme ?

La connaissance de la spéciation des éléments est donc essentielle pour mieux comprendre et interpréter les mécanismes mis en jeu dans leur réactivité, leur toxicité, le rôle et la fonction des métaux essentiels et toxiques, et pour concevoir et développer des **décorporants**⁽²⁾ efficaces et sélectifs.

Ainsi, déterminer la spéciation d'un élément dans un milieu donné consiste à détecter, identifier, localiser et quantifier les différentes formes physico-chimiques sous lesquelles il se trouve. En plus des formes chimiques précédemment décrites, il s'agit également de déterminer les différentes formes physiques : répartition de l'élément entre formes solubles, colloïdales ou particulaires et phases solides, modes d'association et localisation physique, etc.

Actuellement, il n'existe pas « d'analyseur de spéciation » universel ; il est donc nécessaire de développer des outils expérimentaux permettant l'identification, la localisation et la quantification des différentes espèces d'un élément dans les

Différentes techniques d'analyse

Les termes suivis d'un astérisque* dans le texte sont définis ci-dessous.

CRDS : spectroscopie d'absorption en cavité résonante (« cavity ring down spectroscopy »).

DART : analyse directe en temps réel (« direct analysis in real time »).

DESI : désorption ionisation par électro-nébulisation (« desorption electrospray ionization »).

DRX : analyse par diffraction de rayons X (« X-ray diffraction analysis »).

EC : électrophorèse capillaire (« capillary electrophoresis »).

EDX : spectrométrie de rayons X à dispersion d'énergie (« X-ray energy dispersive spectrometry »).

EELS : spectroscopie de perte d'énergie des électrons (« electron energy loss spectroscopy »).

ESI-MS : ionisation par électro-nébulisation couplée à la spectrométrie de masse (« electrospray ionization mass spectrometry »).

EXAFS : « extended X-ray absorption fine structure ».

FTICR : résonance cyclotronique ionique à transformée de Fourier (« Fourier transformed ion cyclotron resonance »).

FTIR : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (« Fourier transformed infrared spectroscopy »).

GC : chromatographie en phase gazeuse (« gas chromatography »).

GC-MS : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (« gas chromatography mass spectrometry »).

GDMS : spectrométrie de masse à décharge lumineuse (« glow discharge mass spectrometry »).

HILIC : chromatographie d'interactions hydrophiles (« hydrophilic interaction chromatography »).

HPLC : chromatographie liquide haute performance (« high performance liquid chromatography »).

ICP-AES : spectrométrie d'émission optique à source plasma à couplage inductif (« inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry »).

ICP-MS : spectrométrie de masse à source plasma à couplage inductif (« inductively coupled plasma-mass spectrometry »).

IMAC : chromatographie d'affinité pour ions métalliques immobilisés (« immobilized metal affinity chromatography »).

IR : spectroscopie infrarouge (« infrared spectroscopy »).

ITP : isotachophorèse (« isotachopheresis »).

LAESI : ablation laser couplée à l'ionisation par électrospray (« laser ablation electrospray ionization »).

LA-ICPMS : ablation laser couplée à la spectrométrie de masse à source plasma à couplage inductif (« laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry »).

LIBS : spectrométrie d'émission optique sur plasma produit par laser (« laser induced breakdown spectroscopy »).

LIF : fluorescence induite par laser (« laser induced fluorescence »).

MALDI : ionisation-désorption laser assistée par matrice (« matrix assisted laser desorption-ionization »).

PIXE : émission de rayons X induits par des particules (« particle induced X-ray emission »).

RBS : spectrométrie de rétrodiffusion de Rutherford (« Rutherford back scattering spectrometry »).

RMN : résonance magnétique nucléaire (« nuclear magnetic resonance »).

RPE : résonance paramagnétique électronique (« electron paramagnetic resonance »).

SEC : chromatographie d'exclusion stérique (« size exclusion chromatography »).

SIMS : spectrométrie de masse d'ions secondaires (« secondary ion mass spectrometry »).

SLRT : spectrofluorimétrie laser à résolution temporelle (« time-resolved laser induced fluorescence », TRLIF).

SNOM : microscopie optique en champ proche (« scanning near-field optical microscopy »).

STIM : microscopie ionique à transmission (« scanning transmission ion microscopy »).

TEM : microscope électronique à transmission (« transmission electron microscopy »).

TIMS : spectrométrie de masse à thermo-ionisation (« thermo-ionization mass spectrometry »).

UV-vis : spectroscopie UV-visible (« UV-visible spectroscopy »).

XANES : spectroscopie de structure au seuil d'absorption de rayons X (« X-ray absorption near edge structure »).

XAS : spectrométrie d'absorption des rayons X (« X-ray absorption spectrometry »).

XPS : spectrométrie de photoélectrons X (« X-ray photoelectron spectrometry »).

XRF : spectrométrie de fluorescence X (« X-ray fluorescence »).

échantillons. Le défi analytique permanent est alors d'obtenir une réponse sensible et spécifique, tout en conservant l'intégrité et la représentativité de l'échantillon. Il est également essentiel de considérer la forme physico-chimique de l'élément, le type d'échantillon (solution, interfaces solide-liquide, gazeux et solide) et la concentration des éléments d'intérêt. De la même façon, la stratégie développée dépendra de la nature de l'information recherchée et du type d'études ciblées, qui peuvent être fondamentales via l'étude de systèmes modèles ou l'étude d'échantillons réels, généralement dans des matrices complexes. Il est à noter qu'en amont de l'analyse de spéciation, de nombreux travaux sont initiés afin de développer des procédures adéquates d'échantillonnage, de conservation et de préparation d'échantillon strictes, procédures nécessaires pour ne pas modifier la répartition des formes chimiques et obtenir des résultats fiables.

Les méthodes et les techniques analytiques de spéciation

Il existe deux principales manières de réaliser des études de spéciation : l'approche par calcul et l'utilisation de techniques analytiques. La spéciation théorique consiste à calculer la répartition des différentes formes chimiques d'un élément dans un milieu donné à partir de constantes de stabilité thermodynamiques décrivant les équilibres chimiques impliqués. La spéciation théorique d'un élément dans des milieux biologiques ou environnementaux est souvent délicate. Ce sont en effet des milieux très complexes, dont la composition est généralement variable car soumise à des processus dynamiques, et les constantes thermodynamiques des espèces chimiques en présence sont très peu connues. C'est la raison pour laquelle l'analyse de spéciation par des techniques analytiques dédiées est la plupart du temps incontournable.

La spéciation théorique : approche par calcul (in silico)

Cette approche implique de connaître la composition du milieu et les équilibres physico-chimiques mis en jeu avec les constantes thermodynamiques associées. Il est alors possible de calculer :

- en solution : la solubilité, la précipitation et la répartition des différentes formes chimiques complexées dans le milieu donné, milieu parfaitement défini par sa composition, à savoir le pH, le potentiel redox (Eh), la force ionique, la concentration des cations et des anions avec identification des ligands ou complexants (composés minéraux, organiques, biologiques) ;
- dans un système solide-solution : la distribution de l'élément entre la phase liquide et la phase solide, en considérant la présence de colloïdes et particules, de substrats solides (surfaces minérales, interfaces biologiques...).

L'établissement des diagrammes de spéciation est généralement effectué au moyen d'outils théoriques, comme par exemple le code de calcul JCHESS [2], couplé à une base de données (e.g. OCDE/AEN) [3]. Ces calculs théoriques permettent, par exemple, de dimensionner les expérimentations *in vitro* ou *in vivo* en appréhendant des effets de concentration, de précipitation, d'oxydo-réduction... ou d'aider à interpréter les résultats.

Exemple : Sur la base de données thermodynamiques existant dans la littérature et incrémentées dans la base de données BASSIST [4], Ansoborlo *et coll.* [5] ont établi un

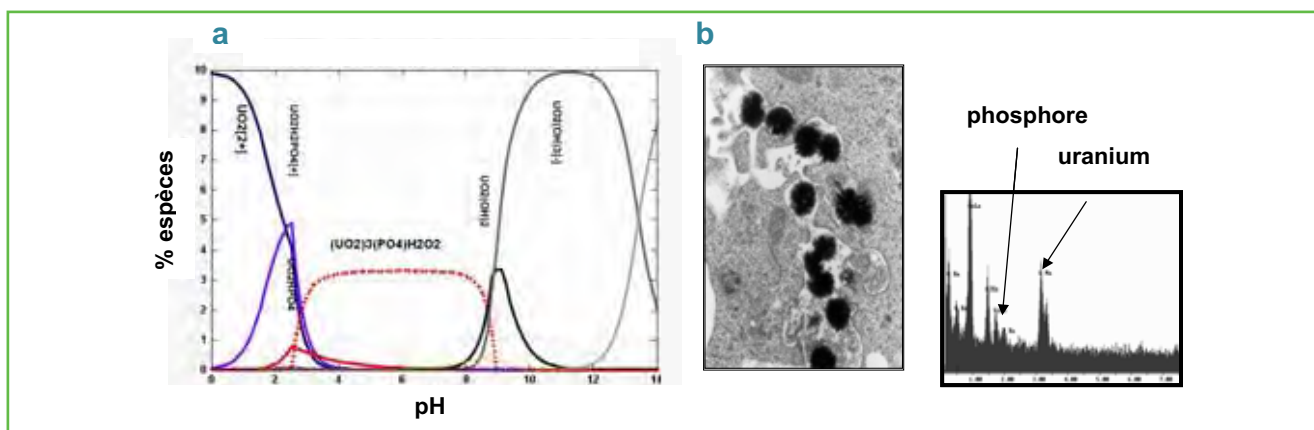


Figure 1 - (a) Spéciation théorique de l'ion uranyle ($[UO_2^{2+}] = 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) dans des cellules rénales [5], (b) précipitation intracellulaire de phosphate d'uranyle $(UO_2)_3(PO_4)_2, 4 H_2O$ à pH 5, suspectée par analyse MET-EDX* de lysosomes de cellules rénales LLC-PK1 en culture [6].

diagramme de spéciation de l'ion uranyle (pH 5, $[UO_2^{2+}] = 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) dans les cellules rénales (figure 1a) permettant de prédire la précipitation de l'uranium sous forme de phosphate d'uranyle, suspectée par Mirto *et coll.* [6] (figure 1b), observée par Carrière *et coll.* [7-8] et confirmée par EXAFS* [9].

La mise en œuvre d'une plate-forme incluant des techniques analytiques offre la possibilité de mener des études de spéciation sur des systèmes modèles simples, constitués d'un métal et d'un ligand d'intérêt biologique ou environnemental. Ainsi, des informations structurales, la stœchiométrie et les constantes de stabilité thermodynamiques des espèces sont déterminées, permettant l'alimentation des bases de données utilisées pour établir les diagrammes de spéciation théorique. Afin d'obtenir des données fiables, il est impératif de croiser les données acquises par ces techniques complémentaires. L'étude de ces systèmes simples est également un moyen pour le développement et la validation de méthodes analytiques dédiées qui pourront être appliquées à des milieux complexes.

La spéciation expérimentale : utilisation de techniques analytiques (*in analytico*)

De nombreuses techniques analytiques existent pour réaliser des études de spéciation, donnant des informations différentes et très souvent complémentaires (figure 2).

- Les techniques telles que la résonance magnétique nucléaire (RMN*), la spectroscopie d'absorption X (XAS*), la spectroscopie UV-visible*, la spectroscopie laser résolue en temps (SLRT*)... permettent d'obtenir des **informations structurales** sur les espèces chimiques, comme le degré d'oxydation du métal, la stœchiométrie⁽³⁾ des espèces, la géométrie des complexes, les atomes donneurs impliqués dans la coordination, les longueurs de liaisons... Ces techniques permettent de travailler dans une large gamme de concentrations (10^{-1} à $10^{-10} \text{ mol.L}^{-1}$).

- Des **informations moléculaires**, telles que la caractérisation du ligand coordonné

au métal et la stœchiométrie des espèces, ainsi que le nombre d'espèces en solution, peuvent être obtenues par spectrométrie de masse à source d'ionisation électrospray (ESI-MS*), qui est une technique d'ionisation douce. L'identification structurale est possible grâce à l'utilisation de cellules de collision, qui permet une analyse en mode MS/MS. Malgré ce mode d'analyse en tandem, l'identification de grosses molécules telles que les protéines et les métalloprotéines reste un enjeu. Il est à noter que des analyses de spéciation par ESI-MS peuvent être menées sur des systèmes simples dans la mesure où les complexes en présence, les ligands et les métaux libres en solution peuvent être caractérisés et quantifiés. Bien que la spectrométrie de masse à source électrospray soit une technique d'analyse sensible (des concentrations inférieures à $10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$ sont analysables), elle souffre souvent d'effets de matrice impliquant la suppression de signal et le manque de sensibilité pour l'analyse des échantillons biologiques. De plus, les interactions métal-ligands sont susceptibles d'être perdues dans la phase gazeuse, soulevant des questions sur la corrélation entre les espèces en solution et en phase gazeuse.

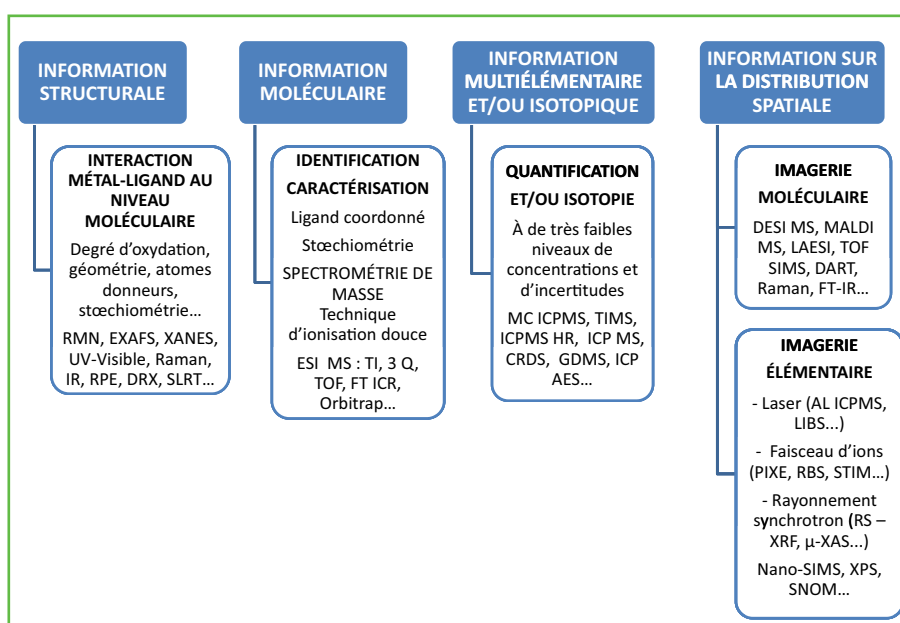


Figure 2 - Répartition de différentes techniques analytiques selon l'information recherchée (voir aussi glossaire).

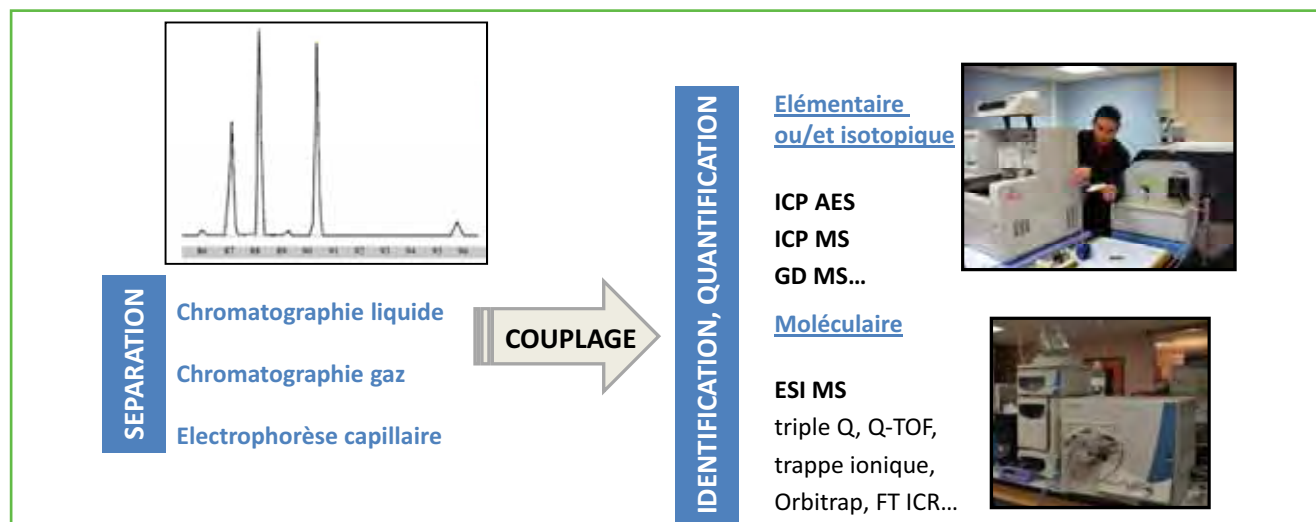


Figure 3 - Schéma de principe du couplage de techniques séparatives avec des techniques d'analyse élémentaire et moléculaire (CEA Saclay, Direction de l'Énergie Nucléaire, Département de Physico-Chimie).

• Des **informations multi-élémentaires et isotopiques** à de très faibles niveaux de concentrations (10^{-12} mol.L⁻¹) et d'incertitudes sont permises par la spectrométrie de masse à source plasma à couplage inductif (ICP-MS^{*}). Ces avantages sont couplés à une bonne tolérance aux effets de matrice, offrant la possibilité d'analyser des échantillons complexes et variés. Dans le domaine de la spéciation appliquée à la toxicologie, l'ICP-MS est très utilisée pour l'analyse spécifique et quantitative des biomolécules contenant dans leur structure un métal ou un métalloïde. L'amélioration de la sélectivité de l'ICP-MS est possible par l'utilisation de cellules de collision/réaction, permettant de supprimer certaines interférences isobariques [10]. Néanmoins, les informations moléculaires et structurales ne sont pas accessibles, ce qui a rendu la combinaison de l'analyse moléculaire et élémentaire une approche prometteuse et un outil puissant pour étudier la spéciation *in vitro* et *in vivo*.

Ces deux techniques de spectrométrie de masse, ESI-MS et ICP-MS, peuvent également être utilisées comme détection en ligne suite à la séparation de plusieurs espèces en présence (figure 3). Les méthodes séparatives couplées en ligne à une technique de détection sensible et spécifique constituent un outil analytique incontournable pour l'analyse de spéciation dans les matrices d'intérêt dans le domaine environnemental, biologique ou nucléaire. Les principales techniques de séparation utilisées sont : i) l'électrophorèse capillaire (EC^{*}) et ses dérivées comme l'isotachophorèse (ITP^{*}) ; ii) la chromatographie en phase gazeuse (GC-MS^{*}) ; et iii) la chromatographie en phase liquide dont les modes de séparation les plus rencontrés sont la chromatographie d'échange d'ions, la chromatographie d'exclusion stérique (SEC^{*}), la chromatographie de partage à polarité de phases inversée, la chromatographie d'appariement d'ions, la chromatographie d'affinité (IMAC^{*}), et plus récemment la chromatographie d'interactions hydrophiles (HILIC^{*})....

En fonction des besoins en justesse et de la nature des espèces mises en jeu, la méthode de dilution isotopique est de plus en plus utilisée lors des études de spéciation par couplage entre les techniques séparatives et l'ICP-MS, pour quantifier précisément des composés organométalliques, même dans des matrices complexes [11-13]. La mise en œuvre de cette méthode nécessite l'utilisation d'espèces

enrichies isotopiquement et/ou d'espèces marquées, mais ces espèces ne sont pas toujours disponibles.

Étant donnée la complexité des matrices, il est courant d'avoir recours à de la chromatographie multidimensionnelle. Les fractions issues d'une première séparation chromatographique d'un échantillon sont récupérées et soumises à des séparations supplémentaires basées sur des principes différents. Par exemple, pour l'analyse d'échantillons biologiques, la SEC couplée à l'ICP-MS constitue une première étape de purification et de criblage de fractions protéiques/peptidiques contenant des métaux/radionucléides. En raison de la faible résolution de la SEC, les différentes fractions sont ensuite séparées plus finement grâce à un autre type de chromatographie (phase inverse, échange d'ions, HILIC...) couplée à l'ESI-MS haute résolution d'une part et à l'ICP-MS d'autre part. Ce type d'analyse multidimensionnelle permet ainsi d'accéder à la spéciation, c'est-à-dire l'identification et la quantification d'espèces chimiques contenant des métaux, des métalloïdes ou des radionucléides.

L'analyse de spéciation par des techniques analytiques couplées n'est réalisable que si les espèces à séparer sont suffisamment stables et inertes au regard de la séparation, ce qui assure la préservation de leur intégrité. Dans le cas contraire, il est extrêmement intéressant de considérer les techniques analytiques d'imagerie et de microlocalisation, dont l'objectif est d'établir la distribution quantitative spatiale *in situ* des éléments et des molécules dans divers échantillons solides. L'avantage de ces techniques est qu'elles ne nécessitent pas ou peu de préparation d'échantillons, susceptible de dégrader les espèces à analyser, et elles sont le plus souvent non destructives. Selon la technique utilisée, les informations obtenues sont différentes ; quelques-unes des techniques les plus répandues pour l'analyse de spéciation dans les échantillons biologiques et environnementaux sont déclinées ci-après.

• La détection, la localisation et l'identification de molécules à la surface de nombreux types d'échantillons, en d'autres termes la **distribution spatiale des molécules**, sont réalisables par certaines techniques de spectrométrie de masse. De nombreux composés incluant des protéines, des peptides, des polymères, mais aussi de petites molécules

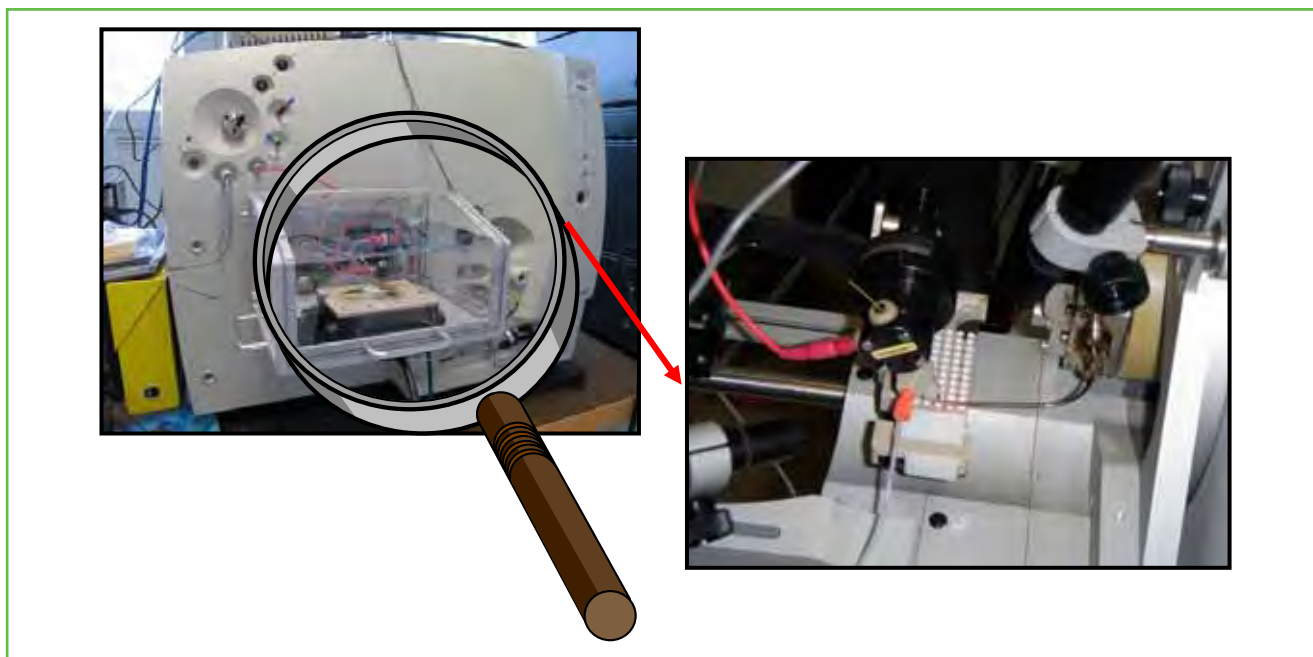


Figure 4 - Spectromètre de masse à source DESI pour l'étude de la distribution spatiale des molécules (CEA Saclay, Direction de l'Énergie Nucléaire, Département de Physico-Chimie).

telles que les lipides, peuvent être analysés dans une grande variété d'échantillons : tissus, verres, papiers, plastiques, etc. L'imagerie moléculaire est généralement réalisée en quatre étapes : la préparation éventuelle de l'échantillon, les processus de désorption-ionisation, l'enregistrement du spectre de masse des molécules d'intérêt point par point de la zone ciblée, et la reconstitution de la distribution des espèces (cartographie en deux dimensions). Les molécules peuvent être désorbées et ionisées par un laser (MALDI*), un faisceau d'ions primaires (SIMS*) ou un flux de gouttelettes chargées (DESI*). À titre d'exemple, le MALDI et le DESI (figure 4) permettent des analyses moléculaires *in situ* avec une résolution de l'ordre de 100 μm et le SIMS avec une résolution inférieure à 100 nm [14]. L'imagerie moléculaire connaît un essor considérable pour le diagnostic de maladies, le suivi thérapeutique, les sciences médico-légales, mais peut être également étendue à l'analyse de spéciation dans des tissus [15].

• La **distribution spatiale des métaux et des éléments avec une haute résolution ainsi que leur spéciation** dans des échantillons solides peuvent être déterminées par des techniques micro-analytiques d'imagerie par source laser, faisceau d'ions ou rayonnement synchrotron. Quelques techniques d'imagerie appliquées à des thématiques en toxicologie sont brièvement décrites ci-dessous :

– **Source laser** : la technique la plus répandue pour réaliser ces analyses est l'ablation laser couplée à la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (LA-ICPMS*). Cette dernière est très utilisée pour l'**analyse multi-élémentaire et isotopique** d'échantillons solides avec d'excellentes limites de détection (ng.g^{-1}) associée à sa capacité à fournir des informations à l'échelle de quelques dizaines de microns [16]. Après focalisation d'un faisceau laser sur l'échantillon, la matière ablatée est entraînée dans le plasma d'un ICPMS par un gaz inerte (argon ou hélium) où elle est atomisée puis ionisée. C'est une technique mature pour l'analyse d'échantillons géologiques [17], mais aussi des matériaux de haute

pureté, des semi-conducteurs, etc. L'application de LA-ICPMS dans la recherche biologique et médicale est plus délicate dans la mesure où les méthodes de quantification et les performances analytiques (en particulier la résolution spatiale et en profondeur) doivent être améliorées. Néanmoins, cette technique s'est développée ces dernières années pour la cartographie élémentaire de métaux dans des tissus [18-19] et la détection *in situ* de métalloprotéines dans des gels d'électrophorèse [20].

– **Faisceau d'ions** : la haute résolution obtenue avec ce type de technique découle du diamètre du faisceau d'ions, de l'ordre du micron, focalisé sur un échantillon solide. Les microsondes à faisceau de protons offrent la possibilité de réaliser l'imagerie quantitative de la distribution d'éléments avec une haute résolution spatiale (0,2-2 μm) et une haute sensibilité (de l'ordre du $\mu\text{g.g}^{-1}$). La combinaison des analyses des ions émis (STIM*), des rayons X émis (PIXE*) et des particules rétrodiffusées (RBS*) permet donc d'établir la **distribution spatiale in situ** et la **quantification multi-élémentaire de métaux et d'éléments à l'échelle cellulaire et subcellulaire** [21]. Ces techniques d'analyse sont donc des outils puissants pour contribuer à des études de toxicologie cellulaire, puisque la distribution intracellulaire quantitative de métaux à l'état de trace est obtenue. L'imagerie par faisceau d'ions est appliquée depuis quelques années dans la recherche sur le cancer, par exemple pour le suivi cellulaire du cis-platine [22], sur les maladies neurodégénératives à travers l'étude de la distribution intracellulaire du fer dans les neurones [23], et sur la toxicologie des métaux en mettant en évidence l'interaction de métaux toxiques avec les métaux essentiels à l'état de trace... [24] (figure 5).

– **Rayonnement synchrotron** : les progrès récents des installations de rayonnement synchrotron permettent d'obtenir des faisceaux de rayons X focalisés à mieux que le micromètre en spectroscopie d'absorption X (XAS). On peut ainsi atteindre en $\mu\text{-XAS}$ des **informations de spéciation au niveau cellulaire et subcellulaire** [25]. La principale application

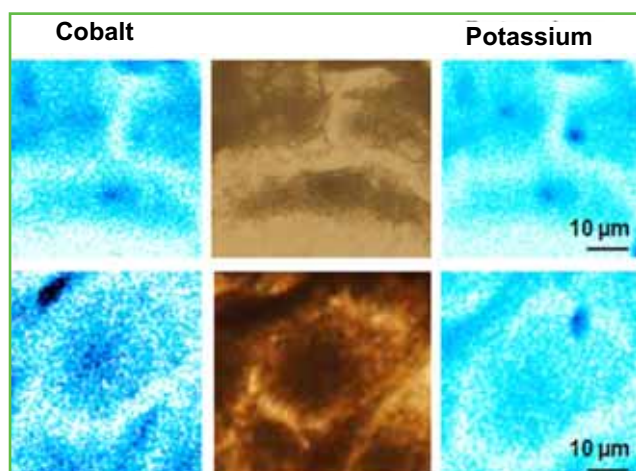


Figure 5 - Distribution du cobalt dans des cellules épithéliales humaines (HaCaT) exposées pendant 48 h à 400 µM de CoCl_2 , obtenue par microsonde faisceau d'ions [24]. Analyse par microscopie optique (centre) et cartographie du cobalt et du potassium obtenue par analyse PIXE.

de la μ -XAS est en μ -XANES*, qui est une sonde unique pour caractériser *in situ* le degré d'oxydation et la géométrie d'un métal dans les compartiments subcellulaires. Cette technique a été utilisée pour des études dans les domaines des maladies neurodégénératives, de la carcinogenèse des métaux, des mécanismes physiologiques des éléments traces et de la spéciation des métaux dans les procaryotes. Des métaux à différents degrés d'oxydation ont été identifiés dans les compartiments subcellulaires de différentes cellules, comme par exemple Fe(II)/Fe(III) et Cu(I)/Cu(II) dans des cellules neuronales, Cr(III)/Cr(VI) dans des cellules pulmonaires, Pt(II)/Pt(IV) dans des cellules tumorales et As(III)/As(V) dans des cellules hépatiques [25].

Les techniques d'analyse par microsondes à rayonnement synchrotron et faisceaux d'ions offrent probablement la meilleure association entre la sensibilité et la résolution spatiale.

Les microsystèmes analytiques pour l'analyse de la spéciation

Les systèmes d'analyse intégrés, appelés aussi « **micro total analytical system** » (μ TAS) ou **laboratoire sur puce**, consistent en des dispositifs miniaturisés comprenant tout ou partie des étapes du processus analytique (préparation des échantillons, séparation, détection, quantification). Le développement de systèmes analytiques miniaturisés a connu un essor considérable ces dernières années dans la mesure où ils présentent un grand nombre d'avantages : l'analyse de composés à l'état de trace ou d'ultratrace dans des matrices complexes, la diminution des volumes d'échantillons, de réactifs, de déchets chimiques, de temps d'analyse, et la possibilité de mise en œuvre d'analyses à haut débit et sur le terrain. Ces caractéristiques sont en adéquation avec les fortes demandes sociales actuelles. Les principales applications concernent la biologie (puces à ADN, à protéines...), mais de plus en plus d'applications en chimie analytique apparaissent actuellement. Typiquement, il s'agit de structures d'une dizaine de cm^2 comportant un réseau de canaux dont les dimensions sont de l'ordre de quelques dizaines de micromètres (figure 6) au sein desquels

une étape d'injection suivie d'une étape de séparation et enfin d'une étape de détection sont, par exemple, mises en œuvre.

Dans ces microsystèmes, la **séparation des espèces** joue un rôle fondamental pour l'analyse d'échantillons complexes. Cette séparation est basée soit sur l'utilisation du flux électrocinétique, soit sur un principe de chromatographie. Parmi les différentes techniques, l'**électrophorèse capillaire** (EC*) est très intéressante car elle permet des séparations efficaces, rapides et sur de très faibles volumes d'échantillon. Elle ne nécessite de plus qu'une instrumentation simple, facilement miniaturisable. L'EC sur microsystèmes est ainsi développée dans les domaines biomédical, pharmaceutique, environnemental, etc. [26-27]. Il est également possible d'utiliser une grande variété de techniques séparatives basées sur le principe de l'EC, comme l'**isotachophorèse** qui offre la possibilité de concentrer (jusqu'à un facteur 1 000) des analytes au cours de la séparation. L'isotachophorèse peut être mise en œuvre soit seule, soit en couplage avec l'électrophorèse capillaire de zone ou l'électrophorèse capillaire micellaire, pour le traitement amont des échantillons (pré-séparation, concentration, élimination de matrice), conduisant ainsi à des séparations rapides avec de très bonnes résolutions. L'isotachophorèse miniaturisée peut ainsi être employée pour l'étude de spéciation. Par exemple, les espèces SO_4^{2-} , Se(VI) , Cr(VI) et As(V) ont pu être séparées en une seule injection [28]. Concernant la **séparation par mode chromatographique**, différentes voies sont étudiées comme la fonctionnalisation des canaux *in situ*, les structures dites COMOSS (« COllocated MOlonolith Support Structures ») constituées de réseaux de nanopiliers microfabriqués, les phases particulières, les phases monolithiques à base polymères continues et poreuses... Ces dernières font l'objet de nombreuses études pour la séparation d'ions inorganiques, de molécules et de biomolécules, et sont particulièrement bien adaptées aux microsystèmes. Elles possèdent en effet l'avantage de pouvoir être synthétisées *in situ*, éliminant ainsi les difficultés de remplissage.

Détection miniaturisée

La détection de composés après séparation sur microsystème est l'un des points clés et sans doute l'un des plus délicats à maîtriser. Cette détection peut être miniaturisée et implantée sur le microsystème de façon à disposer d'un système totalement autonome et utilisable sur site. On trouve alors de nombreux types de détection. En raison de sa sensibilité (limites de détection jusqu'à 10^{-10} - 10^{-12} mol.L^{-1}) et de sa sélectivité, la **détection par fluorescence** (LIF*) constitue la méthode la plus communément répandue en chromatographie liquide et en électrophorèse capillaire pour suivre les séparations sur des microsystèmes [29]. La **spectrométrie**

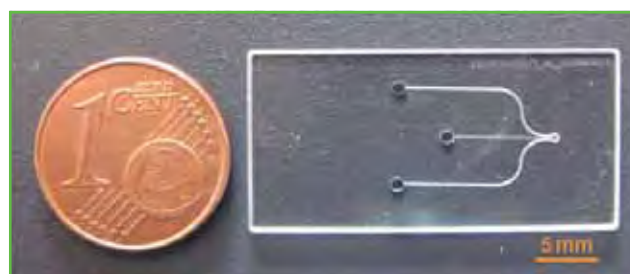


Figure 6 - Exemple de microsystème gravé dans du verre par ablation laser (CEA Saclay, Direction de l'Énergie Nucléaire, Département de Physico-Chimie).



Figure 7 - Couplage entre un microsystème séparatif par isotachophorèse et un ICP-MS pour l'analyse des lanthanides (collaboration CEA Saclay, Direction de l'Énergie Nucléaire, Département de Physico-Chimie et Université de Lyon 1) [36].

d'absorption UV-visible est très couramment utilisée en chromatographie liquide et en électrophorèse capillaire. Un système commercial dédié à la détection UV-visible sur des microsystèmes a été testé avec succès pour des problématiques biologiques [30] et environnementales [31]. La **détection par voie électrochimique** offre des possibilités de miniaturisation, est peu coûteuse et demande peu de puissance d'alimentation. La détection conductimétrique est, par exemple, de plus en plus appliquée pour détecter des espèces électroactives ou non sur les dispositifs microfluidiques [32] et se révèle prometteuse pour l'analyse des ions [33].

Détection à l'échelle du laboratoire

Un deuxième axe de détection particulièrement important consiste à coupler les microsystèmes séparatifs avec des spectromètres de masse de laboratoire de façon à conserver les performances analytiques tout en travaillant sur des microquantités d'échantillons. La spectrométrie de masse moléculaire de type ESI-MS est l'une des méthodes de détection les plus utilisées sur les microsystèmes pour les applications en biologie. Elle est couramment appliquée en raison de sa haute sensibilité vis-à-vis de la détection de composés organiques de haut poids moléculaire. Les débits des microfluides (nL- μ L/min) sont proches de ceux utilisés dans les sources nano- et micro-ESI, et des interfaces ont été développées entre le microsystème et l'ESI-MS [34]. En raison de leur forte sensibilité et sélectivité, l'ICP-AES* et l'ICP-MS sont également utilisées comme détecteurs pour les microsystèmes. Un couplage électrophorèse capillaire sur microsystème/ICP-MS pour caractériser la spéciation du chrome, du cuivre et de l'arsenic a par exemple été développé [35], ainsi qu'un couplage entre une séparation par isotachophorèse sur microsystème et un ICP-MS pour la séparation et la mesure isotopique des lanthanides [36] (figure 7).

Conclusions et perspectives

La connaissance de la spéciation est fondamentale dans de nombreux domaines d'étude, et en particulier en toxicologie humaine et environnementale, pour comprendre et interpréter les mécanismes mis en jeu dans la réactivité des éléments présents à l'état de traces et dimensionner les expérimentations associées. La détermination de la spéciation

d'un élément dans un échantillon, quel qu'il soit, implique de caractériser parfaitement le milieu, d'obtenir une réponse spécifique et sensible, de disposer de bases de données thermodynamiques partagées par les chimistes et les biologistes, et de croiser les méthodes d'études et les calculs théoriques. L'utilisation et le développement de techniques séparatives couplées aux techniques spectrométriques sont indispensables pour l'analyse de spéciation dans les milieux complexes rencontrés dans les domaines biologique, environnemental ou nucléaire.

Par ailleurs, les techniques analytiques d'imagerie et de microlocalisation sont de plus en plus développées pour établir la distribution spatiale *in situ* des éléments et des molécules dans divers échantillons solides. Les développements récents réalisés sur les microsondes à faisceau d'ions ou rayonnement synchrotron sont très prometteurs pour l'imagerie et la spéciation à l'échelle subcellulaire. L'essor considérable de la miniaturisation et de l'intégration d'outils analytiques sur puce est également un atout majeur pour le futur, car l'analyse de spéciation sur de très faibles quantités d'échantillons et sur le terrain sera réalisable.

Dans l'industrie du nucléaire, et en particulier au CEA, les études de spéciation ont été développées depuis une dizaine d'années avec de nouveaux outils analytiques afin de revisiter certains domaines de recherche. Par exemple, dans le domaine des sciences du vivant, la spéciation est indispensable pour l'identification de molécules cibles de radionucléides. De nombreux travaux portent également sur la connaissance de la spéciation des radionucléides dans les différentes étapes du cycle du combustible. En effet, dans la mesure où les différentes formes physico-chimiques gouvernent la solubilité et la distribution des éléments dans un milieu, la connaissance précise et quantitative de la spéciation des radionucléides est fondamentale pour la compréhension et la maîtrise des procédés.

Notes et références

- (1) L'étymologie du mot *spéciation* est issue du domaine des sciences du vivant et correspond à l'apparition de différence entre deux populations d'une même espèce, entraînant leur séparation entre deux populations (Larousse). Ce mot est maintenant couramment utilisé en chimie et en biologie.
- (2) *Décorporation* : traitement visant à éliminer de l'organisme, au moyen d'une substance chimique, des éléments radioactifs ou toxiques qui ont été incorporés. La substance chimique utilisée est appelée *décorporant* (JO 22/02/2009).
- (3) *Stœchiométrie* : étude des proportions molaires suivant lesquelles, au cours d'une réaction chimique, les réactifs se combinent et les produits se forment. Une réaction est dite stœchiométrique lorsque les quantités de réactifs sont dans des proportions molaires identiques à celles de l'équation chimique.
- [1] Templeton D.M., Ariese F., Cornelis R., Danielsson L.G., Muntaw H., Van Leeuwen H.P., Łobinski R., Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches, *Pure Appl. Chem.*, **2000**, 72, p. 1453.
- [2] Van der Lee J., De Windt L., *JCHESS tutorial and cookbook/version 3.0. Users manual LHM/RD/02/13*, École des Mines de Paris, **2002**.
- [3] www.oecd-nea.org
- [4] Bion L., BASSIST: an applied thermodynamic database for radionuclide chemistry, *Radiochim. Acta*, **2003**, 91, p. 633.
- [5] Ansoborlo E., Bion L., Doizi D., Moulin C., Lourenco V., Madic C., Cote G., Van der Lee J., Moulin V., Current and future radionuclide speciation studies in biological media, *Radiat. Prot. Dosim.*, **2007**, 127, p. 97.
- [6] Mirto H., Barrouillet M.P., Henge-Napoli M.H., Ansoborlo E., Fournier M., Cambar J., Influence of uranium(VI) speciation for the evaluation of *in vitro* uranium cytotoxicity on LLC-PK1 cells, *Hum. Exp. Toxicol.*, **1999**, 18, p. 180.
- [7] Carrière M., Avoscan L., Collins R., Carrot F., Khodja H., Ansoborlo E., Gouget B., Influence of uranium speciation on normal rat kidney (NRK-52E) proximal cell cytotoxicity, *Chem. Res. Tox.*, **2004**, 17, p. 446.
- [8] Carrière M., Khodja H., Avoscan L., Carrot F., Gouget B., Uranium(VI) complexation in cell culture medium: Influence of speciation on normal rat Kidney (NRK-52E) cell accumulation, *Radiochim. Acta*, **2005**, 93, p. 691.

- [9] Carrière M., Proux O., Milgram S., Thiebault C., Avoscan L., Barre N., Den Auwer C., Gouget B., Transmission electron microscopic and X-ray absorption fine structure spectroscopic investigation of U repartition and speciation after accumulation in renal cells, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2008**, *13*, p. 655.
- [10] Gourgiotis A., Granet M., Isnard H., Nonell A., Gautier C., Stadelmann G., Aubert M., Durand D., Legand S., Chartier F., Simultaneous U/Pu separation and direct isotope ratio measurements by using CO₂ as gas in a collision/reaction cell based MC-ICPMS, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2010**, *25*, p. 1939.
- [11] Rappel C., Schaumlöffel D., Absolute peptide quantification by lutetium labeling and nano HPLC-ICPMS with isotope dilution analysis, *Anal. Chem.*, **2009**, *81*, p. 385.
- [12] Schaumlöffel D., Giusti P., Preud'Homme H., Szpunar J., Lobinski R., Precolumn isotope dilution analysis in nano HPLC-ICPMS for absolute quantification of sulfur-containing peptides, *Anal. Chem.*, **2007**, *79*, p. 2859.
- [13] Heilmann J., Heumann K., Development of a species-unspecific isotope dilution GC-ICPMS method for possible routine quantification of sulfur species in petroleum products, *Anal. Chem.*, **2008**, *80*, p. 1952.
- [14] Chughtai K., Heeren R.M.A., Mass spectrometric imaging for biomedical tissues analysis, *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, p. 3237.
- [15] Dill A.L., Eberlin L.S., Ifa D.R., Cooks R.G., Perspectives in imaging using mass spectrometry, *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, p. 2741.
- [16] Becker J.S., Zoriy M., Matusch A., Wu B., Salber D., Palm C., Becker J.S., Bioimaging of metals by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS), *Mass. Spectrom. Rev.*, **2010**, *29*, p. 156.
- [17] Guillon M., Heimgartner P., Kopajtic Z., Gunther D., Gunther-Leopold I., A laser ablation system for the analysis of radioactive samples using inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2007**, *22*, p. 399.
- [18] McRae R., Bagchi P., Sumalekshmy S., Fahrni C.J., *In situ* imaging of metals in cells and tissues, *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, p. 4780.
- [19] Wu B., Becker J.S., Imaging of elements and molecules in biological tissues and cells in the low-micrometer and nanometer range, *Int. J. Mass Spectrom.*, **2011**, *307*, p. 112.
- [20] Hare D., Austin C., Doble P., Quantification strategies for elemental imaging of biological samples using laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Analyst*, **2012**, *137*, p. 1527.
- [21] Ortega R., Devès G., Carmona A., Bio-metals imaging and speciation in cells using proton and synchrotron radiation X-ray microspectroscopy, *J.R. Soc. Interface*, **2009**, *6*, p. S649.
- [22] Sakurai S.H., Okamoto M., Hasegawa M., Satoh T., Oikawa M., Kamiya T., Arakawa K., Nakano T., Direct visualization and quantification of the anticancer agent, cis-diamminedichloro-platinum(II), in human lung cancer cells using in-air microparticle-induced X-ray emission analysis, *Cancer Sci.*, **2008**, *99*, p. 901.
- [23] Carmona A., Devès G., Ortega R., Quantitative micro-analysis of metal ions in subcellular compartments of cultured dopaminergic cells by combination of three ion beam techniques, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2008**, *390*, p. 1585.
- [24] Ortega R., Bresson C., Frayssé A., Sandre C., Devès G., Gombert C., Tabarant M., Bleuet P., Sez nec H., Simionovici A., Moretto P., Moulin C., Cobalt distribution in keratinocyte cells indicates nuclear and perinuclear accumulation and interaction with magnesium and zinc homeostasis, *Tox. Lett.*, **2009**, *188*, p. 26.
- [25] Ortega R., Direct speciation analysis of inorganic elements in single cells using X-ray absorption spectroscopy, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2011**, *26*, p. 23.
- [26] Wu D., Qin J., Lin B., Electrophoretic separations on microfluidic chips, *J. Chromatogr. A*, **2008**, *1184*, p. 542.
- [27] Rassi Z.E., Electrophoretic and electrochromatographic separation of proteins in capillaries: An update covering 2007-2009, *Electrophoresis*, **2010**, *31*, p. 174.
- [28] Prest J.E., Baldock S.J., Fielden P.R., Goddard N.J., Brown B.J.T., Inorganic arsenic and selenium determination using miniaturised isotachopheresis, *Microchim. Acta*, **2005**, *151*, p. 223.
- [29] Götz S., Karst U., Recent developments in optical detection methods for microchip separations, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2007**, *387*, p. 183.
- [30] Faure K., Loughran M., Glennon J.D., Microchip metal complex speciation: The nickel-bathophenanthroline disulfonic acid system, *Anal. Chim. Acta*, **2006**, *557*, p. 130.
- [31] Wakida S., Fujimoto K., Nagai H., Miyado T., Shibutani Y., Takeda S., On-chip micellar electrokinetic chromatographic separation of phenolic chemicals in waters, *J. Chromatogr. A*, **2006**, *1109*, p. 179.
- [32] Xu J.J., Wang A.J., Chen H.Y., Electrochemical detection modes for microchip capillary electrophoresis, *Trac-Trends Anal. Chem.*, **2007**, *27*, p. 125.
- [33] Chen G., Lin Y.H., Wang J., Monitoring environmental pollutants by microchip capillary electrophoresis with electrochemical detection, *Talanta*, **2006**, *68*, p. 497.
- [34] Uchiyama K., Nakajima H., Hobo T., Detection method for microchip separations, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, *379*, p. 375.
- [35] Song Q.J., Greenway G.M., McCreedy T., Interfacing a microfluidic electrophoresis chip with inductively coupled plasma mass spectrometry for rapid elemental speciation, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2004**, *19*, p. 883.
- [36] Vio L., Crétier G., Chartier F., Geertsen V., Gourgiotis A., Isnard H., Morin P., Rocca J.L., Coupling between chip based isotachopheresis and multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry for separation and measurement of lanthanides, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2012**, *27*, p. 850.



C. Bresson



F. Chartier



E. Ansoborlo

Carole Bresson (auteur correspondant)

est ingénieur chercheur, spécialisée en développements analytiques (techniques séparatives couplées et spéciation) au CEA Saclay¹.

Frédéric Chartier

est chef de projets R & D Chimie analytique au CEA Saclay².

Éric Ansoborlo

est expert international du CEA dans les domaines de la radiotoxicologie et de la spéciation des radionucléides dans la biosphère³.

¹ CEA, DEN, DPC, SEARS, Laboratoire de Développement Analytique Nucléaire, Isotopique et Élémentaire, F-91191 Gif-sur-Yvette Cedex.

Courriel : carole.bresson@cea.fr

² CEA, DEN, Département de Physico-Chimie, F-91191 Gif-sur-Yvette Cedex.

Courriel : frederic.chartier@cea.fr

³ CEA, DEN, DRCP, CETAMA, Marcoule, F-30207 Bagnols-sur-Cèze Cedex.

Courriel : eric.ansoborlo@cea.fr



La SCF sur Facebook, vous aimez ?
Parlez-en autour de vous,
et invitez vos amis et collègues à nous rejoindre !

• www.facebook.com/pages/Soci%C3%A9t%C3%A9-Chimique-de-France/114534205270205

Déterminer les mécanismes moléculaires conduisant à la toxicité de l'uranium

La longue marche !

Claude Vidaud et Agnès Hagège

Résumé L'élucidation des mécanismes de toxicité d'un métal passe par l'identification de ses cibles protéiques. À l'heure actuelle, il est difficile de prédire les sites favorables à la fixation des métaux. La détermination des cibles d'un métal *ex nihilo* nécessite par conséquent de mettre en œuvre des techniques séparatives associées à des identifications en spectrométrie de masse moléculaire et élémentaire. Mais cette étape n'est pas suffisante : la détermination précise de leurs constantes d'affinité relatives vis-à-vis du métal est indispensable pour décrire celles qui vont réellement le véhiculer dans l'organisme. Ce type de démarche est illustré au travers de l'exemple de l'uranium.

Mots-clés Toxicité, uranium, actinides, méthodes séparatives, métallomique.

Abstract **A long way to elucidate molecular mechanisms leading to uranium toxicity**
The elucidation of the mechanisms of metal toxicity necessitates the identification of its proteic targets. To date, the prediction of the sites enabling metal fixation is still impossible. As a consequence, the determination *ex nihilo* of metal targets requires the implementation of separation techniques together with an identification using both molecular and elemental mass spectrometry. But this approach remains insufficient, and the precise determination of affinity constants towards a metal is essential for the description of the proteins which really carry the metal throughout the organism. This is exemplified through the uranium case.

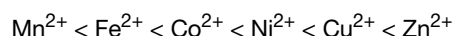
Keywords Toxicity, uranium, actinides, separation methods, metallomics.

Les mécanismes biologiques nécessitent la présence de métaux

Les métaux omniprésents dans notre environnement sont essentiels à toute forme de vie. Les systèmes vivants utilisent des métaux relativement abondants : les alcalino-terreux (Ca, Mg), les alcalins (Na, K) et ceux de la première série de transition, le fer et le cuivre, qui ont permis aux organismes de s'adapter à la présence d'oxygène et sont particulièrement représentés, mais aussi le zinc, le manganèse, le cobalt... (voir *tableau*). Les métaux ont des fonctions i) de structure (Ca, Zn, Mg) ; ii) de réserve, comme dans le cas de la ferritine, une protéine capable de stocker jusqu'à 4 500 atomes de Fe³⁺, forme oxydée du métal très peu soluble à pH physiologique ; iii) de transfert d'électrons (Fe, Cu, Mn, V, Mo, Co, Ni) ; iv) de liaison du dioxygène (Fe, Cu) ; v) catalytiques (Mn, Co, Ni, Mo) ; vi) de transfert d'information (Na, K, Ca) [1].

Il est communément admis qu'un tiers des protéines requiert la présence de métaux. Ils peuvent être directement liés aux acides aminés qui les constituent, mais aussi *via* des groupements prosthétiques comme l'hème des hémoglobines ou des glycosylations de ces protéines. L'établis-

sement des interactions métaux-protéines dépend des orbitales de valence des ligands et des propriétés de charge, du nombre de coordination et de la géométrie de l'ion métallique. L'ordre de stabilité suit globalement la série établie par Irving et Williams pour un ligand donné [2] :



Selon la théorie HSAB (« hard and soft acids and bases ») ou de Pearson [3], les cations durs, de faible rayon ionique et de charge élevée, établissent des liaisons avec des bases d'électronégativité élevée dites dures, et les cations dits « mous », de grand rayon ionique et de faible charge, établissent des liaisons avec des bases molles de faible électronégativité.

Les métaux sont tous potentiellement toxiques

Si les carences en métaux essentiels sont néfastes pour l'organisme, ils sont aussi toxiques à concentrations élevées et leur homéostasie doit être finement régulée. Ainsi l'anémie ferriprive et l'hémochromatose sont deux pathologies, l'une

Éléments constituant plus de 95 % du poids corporel
oxygène (O), carbone (C), hydrogène (H), azote (N)
Éléments majeurs (mg/g)
calcium (Ca), phosphore (P), potassium (K), soufre (S), chlore (Cl), sodium (Na), magnésium (Mg)
Éléments-traces (µg/g)
<i>essentiels à la vie :</i>
fer (Fe), cuivre (Cu), zinc (Zn), sélénium (Se), cobalt (Co), manganèse (Mn), molybdène (Mo), iode (I), fluor (F), vanadium (V), nickel (Ni), silicium (Si), chrome (Cr)
<i>non essentiels et/ou toxiques :</i>
arsenic (As), aluminium (Al), bore (B), cadmium (Cd), uranium (U), mercure (Hg), plomb (Pb)...

Les principaux éléments du système vivant.

résultant d'un déficit et l'autre d'une surcharge en fer dont la concentration sérique normale varie de 15 à 30 µmol/L. Les deux pathologies sont symptomatiques en deçà de 10 µmol/L pour l'anémie, au-delà de 70 µmol/L pour l'hémochromatose.

En dehors des métaux essentiels, certains sont délibérément toxiques, même à très faibles doses, alors que d'autres semblent relativement tolérés. La plupart des motifs peptidiques intervenant dans la liaison protéine-métal n'impliquent qu'un petit nombre d'acides aminés organisés dans un arrangement spatial propice, et un motif donné peut permettre de lier des métaux différents. La formation de complexes entre une protéine et un métal inapproprié conduit généralement à des structures inadéquates qui altèrent leurs fonctions. La *figure 1* illustre les modifications de structures du site métallique d'une des protéines capable de lier différents métaux où le zinc est substitué par un ion cadmium [4].

La régulation des mécanismes qui conduisent à la fixation spécifique d'un métal dans une séquence protéique donnée est particulièrement complexe, et actuellement, il est encore impossible de prédire à partir de sa séquence en acides aminés si une protéine liera ou non un métal. Par ailleurs, il n'y a pas de mécanismes clés pour un métal donné et des métaux différents peuvent conduire à l'expression de pathologies similaires [5] : carcinogénicité (Ni, Co, Cd, As, Cr, Pt), immunotoxicité (Au, Co, Cr, Ni, Pt), spermatoxicités (Cd, Pb, Tl), néphrotoxicité (Cd, U), neurotoxicité (Al, Hg, Mn)... Contrairement à d'autres toxiques, les métaux ne peuvent ni être générés ni détruits par les organismes vivants : seule leur forme peut changer, modifiant leur biodisponibilité et leur toxicité. La spéciation chimique (voir l'article de Carole Bresson *et coll.* p. 26) est donc un paramètre majeur à prendre en compte en plus du type d'exposition (inhalation, ingestion, contact cutané), de la dose et de la fréquence d'exposition.

La première « lésion » toxique résulte de l'interaction entre le métal et une (des) cible(s) endogène(s), dont l'identification est nécessaire pour comprendre son devenir dans un organisme, mais aussi pour concevoir des molécules capables de complexer ce métal afin de limiter ses effets et de favoriser son élimination par décorporation⁽¹⁾.

Détermination des cibles de métaux : cas de l'uranium

L'uranium n'a aucune fonction biologique connue. Cet élément 5f, dont l'isotope naturel majoritaire est ²³⁸U, est un

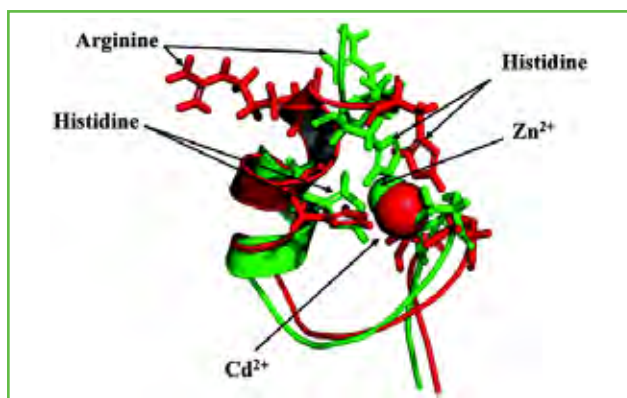


Figure 1 - Substitution du zinc par un ion cadmium dans un site métallique d'une protéine à doigt de zinc ; incidence sur la conformation du squelette polypeptidique (d'après [4]).

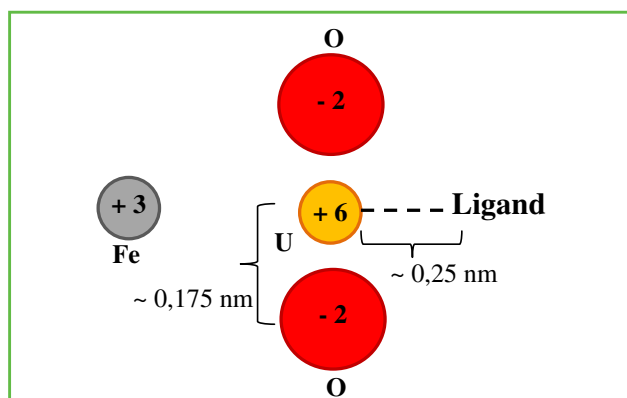


Figure 2 - Caractéristiques du cation uranyle par comparaison avec le cation du fer (d'après [6]).

très faible émetteur α ; ainsi sa toxicité chimique prévaut sur sa toxicité radiologique. En solution aqueuse, il se trouve sous la forme du dioxocation uranyle (UO_2^{2+}) et établit quatre à cinq liaisons de coordination dans un plan perpendiculaire à l'axe formé par les deux oxygènes (*figure 2*). Comme acide de Lewis dur, il peut se lier aux oxygènes des glutamates, des aspartates et des tyrosines, et dans une moindre mesure à l'azote des histidines. Il présente une spéciation très complexe en milieu physiologique et ses caractéristiques particulières, notamment de taille et de géométrie (*figure 2*), empêchent toute « analogie » avec d'autres éléments [6].

Quelle que soit sa voie d'entrée, UO_2^{2+} passe dans le sang où il forme des complexes avec les carbonates (50 %) et les protéines (30 %), les 20 % restants étant retrouvés à la surface des hématies. Ses organes cibles sont essentiellement le rein et le squelette et dans une moindre mesure le foie, les tissus mous et le cerveau [7]. Néphrotoxique, il provoque des atteintes au niveau des tubules et des glomérules rénaux, et à l'échelle de la cellule rénale, on observe une accumulation de phosphates d'uranyle dans les lysosomes [8]. Dès les premières heures suivant l'intoxication, environ 20 % de l'uranyle sont retrouvés dans les os où son temps de rétention peut atteindre plusieurs années [9]. La succession des processus biochimiques conduisant à cette accumulation n'est pas décrite, et cette connaissance est essentielle pour concevoir de nouveaux traitements plus efficaces que ceux actuellement disponibles.

L'identification des protéines affines pour UO_2^{2+} à partir de fluides biologiques est donc primordiale et nécessite la mise en place de stratégies séparatives. La première difficulté réside dans le fait que les stabilités de complexes non covalents protéine-métal sont sensibles à des variations de pH, de force ionique et de température, contrairement aux espèces covalentes. Les méthodes mises en œuvre doivent conserver des complexes généralement formés en très faibles concentrations, et les isoler sélectivement parmi les milliers de protéines d'un milieu biologique dont les concentrations sont réparties sur une échelle allant de 1 à 10^{12} dans le cas d'un sérum reste un défi. À l'heure actuelle, les méthodes permettant de séparer des complexes non covalents sont peu nombreuses (électrophorèse en conditions non dénaturantes, électrophorèse capillaire, chromatographie d'exclusion...), et en raison de la labilité potentielle des solutés, les paramètres de séparation sont très restreints. De ce fait, la résolution qui en résulte est souvent très insuffisante pour séparer l'ensemble des constituants d'un mélange biologique.

Les stratégies que nous avons adoptées reposent non plus sur l'identification des cibles réellement formées *in situ*, mais sur celle de l'ensemble des cibles de l'uranium par des approches *in silico* et *in vitro*. La répartition de l'uranyle a été ensuite déterminée grâce à la mesure des constantes d'affinité en mettant en œuvre une large panoplie de méthodes.

Stratégie par criblage *in silico*

La première stratégie consiste à sélectionner des protéines affines de l'uranyle grâce à un algorithme de criblage développé au laboratoire [10] visant à identifier des sites putatifs du métal dans les structures protéiques déposées dans des banques de données comme la « Protein Data Bank » (PDB) (figure 3). La « C Reactive Protein » (CRP) a été ainsi sélectionnée, et cette protéine a démontré ses capacités de fixation du cation UO_2^{2+} dans un site très voisin de celui du calcium, cation naturel de la protéine, et avec une affinité environ cent fois supérieure. La conséquence de cette affinité pour UO_2^{2+} est une modification structurale au voisinage du site de la fixation du métal entraînant une perte de fonctionnalité : l'absence de la reconnaissance de la phosphocholine [11]. Le manque de données structurales relatives à des protéines entières ne permet pas une étude exhaustive de recherche de cibles des métaux, et quel que soit le métal, il existe peu d'approches de ce type [12].

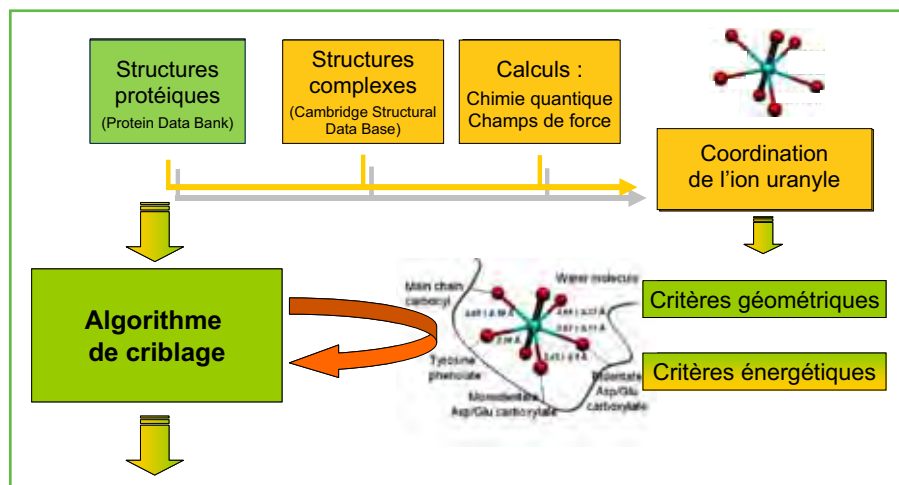


Figure 3 - Principe de l'algorithme de criblage développé (d'après [10]).

Méthodes analytiques

La seconde stratégie consiste à travailler sur des échantillons biologiques en utilisant deux approches analytiques :

Chromatographie multidimensionnelle

La première utilisée dans cette étude est basée sur un préfractionnement poussé des échantillons biologiques grâce à une chromatographie multidimensionnelle. La détermination des protéines cibles est alors réalisée sur des mélanges simplifiés par incubation d' UO_2^{2+} et leur identification par spectrométrie de masse. L'affinité de ces protéines sériques pour UO_2^{2+} a été validée pour douze d'entre elles [13].

Chromatographie d'affinité

Cette approche est cependant inadaptée au cas de petits échantillons comme les extraits cellulaires, pour lesquels les techniques d'affinités sur métal immobilisé (« immobilized metal affinity chromatography », IMAC) sont plus adéquates [14]. L'IMAC est une méthode de « capture » de protéines qui ont la potentialité de lier un métal dans la configuration imposée par le ligand fixé sur la phase stationnaire et avec une sélectivité liée à l'accessibilité des sites de fixation du métal dans la protéine. Généralement, des résines fonctionnalisées avec de l'acide nitrilotriacétique sont utilisées pour immobiliser les métaux comme le zinc, le cobalt ou le cuivre [15]. Dans le cas du cation UO_2^{2+} , ses caractéristiques de taille et de géométrie n'ont pas permis d'utiliser ces phases stationnaires. L'isolement d'une soixantaine de protéines liant le métal à partir d'extraits de cellules rénales a été réalisé après avoir développé un support greffé par des groupements de type amine phosphonique où UO_2^{2+} était immobilisé [16] et leur identification a été réalisée par spectrométrie de masse [17].

Détermination des constantes d'affinité par résonance plasmonique de surface

Dans toutes ces approches, l'étape de détermination des constantes d'affinité pour le métal reste indispensable pour décrire la biodistribution de l'uranyle.

Les techniques biophysiques classiques qui n'utilisent pas de méthode séparative (spectrophotométrie, spectroscopie de fluorescence, dichroïsme circulaire, calorimétrie) visent à quantifier le complexe formé ou le métal libre dans

l'équilibre $\text{P}_x + (\text{UO}_2^{2+})_y \rightleftharpoons [\text{P}_x(\text{UO}_2)_y]$. Elles nécessitent des quantités relativement importantes de protéines et leurs sensibilités ne permettent pas de déterminer des constantes très élevées.

Nous avons donc conçu une méthode utilisant la technique de résonance plasmonique de surface (Biacore®) pour quantifier l'uranyle libre dans l'équilibre. Cette méthode est basée sur le développement d'un anticorps permettant la reconnaissance de l'uranium libre. De plus, la sensibilité de la mesure est exacerbée par l'utilisation d'un ligand rapporteur et conduit à une limite de détection du métal permettant d'atteindre des constantes d'affinité apparentes de l'ordre de la dizaine de nanomolaires [18]. À partir de ces données et des concentrations relatives des

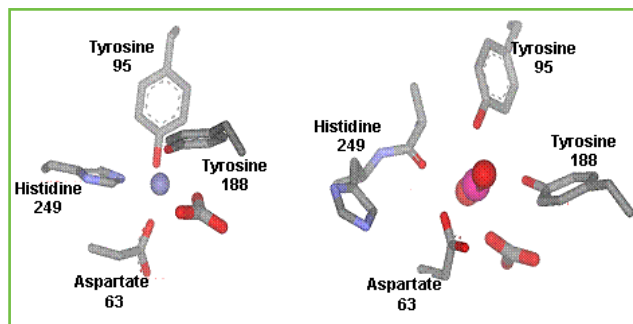


Figure 4 - Représentation d'une organisation spatiale des ligands du métal dans le site d'une protéine, la transferrine : à gauche avec le fer, à droite avec l'uranyle (d'après [20]).

protéines dans le milieu biologique, il est possible de prédire une biodistribution du métal.

Conclusion

L'ensemble de ces démarches a prouvé son potentiel dans la détermination *ex nihilo* de cibles possibles de l'uranyle et peut s'appliquer à toute recherche de cibles d'autres métaux.

La validation de la biodistribution de l'uranyle établie à partir de constantes reste indispensable en réalisant des compétitions. À ce titre, les techniques d'électrophorèse couplées à l'ICP-MS sont tout particulièrement attrayantes [19]. Par ailleurs, la description précise de l'organisation des ligands de l'uranyle dans les sites protéiques doit être enrichie avec un double enjeu : d'une part déterminer les possibles modifications structurales de la protéine et leurs conséquences en termes de fonctionnalité, et d'autre part concevoir des décorporants bio-inspirés⁽²⁾. Ces données sont encore trop peu nombreuses à ce jour, à l'exception de quelques protéines comme la transferrine (figure 4) [20].

Aujourd'hui, la compréhension des phénomènes de toxicité des métaux dans leur ensemble nécessite de renforcer les interactions entre les différents niveaux d'investigation et d'information [21] : *in vitro*, *in silico* et techniques dites « omics » (protéomique, transcriptomique, métallomique).

Notes et références

- (1) *Décorporation* : traitement visant à éliminer de l'organisme au moyen d'une substance chimique des éléments radioactifs ou toxiques qui ont été incorporés (Journal Officiel du 22/02/2009).
- (2) La *bio-inspiration* correspond au décodage d'un concept de construction utilisé par la nature et à son extrapolation pour la fabrication de matériaux

originaux présentant d'autres propriétés et applications, souvent différentes de celles développées par la nature.

- [1] Holm R.H., Kennepohl P., Solomon E.I., *Chem. Rev.*, **1996**, 96, p. 2239.
- [2] Irving H., Williams R.J.P., *J. Chem. Soc.*, **1953**, p. 3192.
- [3] Pearson R.G., *J. Amer. Chem. Soc.*, **1963**, 85, p. 3533.
- [4] Kothinti R., Blodgett A., Tabatabai N.M., Petering D.H., *Chem. Res. Toxicol.*, **2010**, 23, p. 405.
- [5] Wang S.W., Shi X.L., *Mol. Cell. Biochem.*, **2001**, 222, p. 3.
- [6] Van Horn J. D., Huang H., *Coord. Chem. Rev.*, **2006**, 250, p. 765.
- [7] Paquet F., Houpert P., Blanchardon E., Delissen O., Maubert C., Dhieux B., Moreels A.M., Frelon S., Voisin P., Gourmelon P., *Health Physics*, **2006**, 90, p. 139.
- [8] Carriere M., Proux O., Milgram S., Thiebault C., Avoscan L., Barre N., Den Auwer C., Gouget B., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2008**, 13, p. 655.
- [9] Durbin P.W., *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements*, **2006**, 5, p. 3339.
- [10] Pible O., Guilbaud P., Pellequer J.L., Vidaud C., Quéméneur E., *Biochimie*, **2006**, p. 1631.
- [11] Pible O., Vidaud C., Plantevin S., Pellequer J.L., Quéméneur E., *Protein Sci.*, **2010**, 19, p. 2219.
- [12] Andreini C., Bertini I., Rosato A., *Acc. Chem. Res.*, **2009**, 42, p. 1471.
- [13] Vidaud C., Dedieu A., Basset C., Plantevin S., Dany I., Pible O., Quéméneur E., *Chem. Res. Toxicol.*, **2005**, 18, p. 946.
- [14] Porath J., *Protein Expr. Purif.*, **1992**, 3, p. 263.
- [15] Smith S.D., She Y.M., Roberts E.A., Sarkar B., *J. Proteome Res.*, **2004**, 3, p. 834.
- [16] Dedieu A., Berenguer F., Basset C., Prat O., Quéméneur E., Pible O., Vidaud C., *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1216, p. 5365.
- [17] Basset C., Dedieu A., Guerin P., Quéméneur E., Meyer D., Vidaud C., *J. Chromatogr. A*, **2008**, 1185, p. 233.
- [18] Averseng O., Hagège A., Taran F., Vidaud C., *Anal. Chem.*, **2010**, 82, p. 9797.
- [19] Frelon S., Guipaud O., Mounicou S., Lobinski R., Delissen O., Paquet F., *Radiochim. Acta*, **2009**, 97, p. 367 ; Chamoun J., Hagège A., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2005**, 20, p. 1030 ; Chamoun J., Hagège A., *Radiochim. Acta*, **2005**, 93, p. 659.
- [20] Vidaud C., Gourion-Arsiquaud S., Rollin-Genetet F., Torne-Celer C., Plantevin S., Pible O., Berthomieu C., Quéméneur E., *Biochemistry*, **2007**, 46, p. 2215.
- [21] Yannoni S.M., Hartung S., Menon A.L., Adams M.W.W., Tainer J.A., *Curr. Opin. Biotechnol.*, **2012**, 23, p. 89 ; Lobinski R., Becker J.S., Haraguchi H., Sarkar B., *Pure Appl. Chem.*, **2010**, 82, p. 493.



C. Vidaud

Claude Vidaud

(auteur correspondant)

est chercheur au CEA, chef de laboratoire, Bagnols-sur-Cèze*.

Agnès Hagège

est chargée de recherche au CNRS, CEA Cadarache**.



A. Hagège

* CEA/DSV/SBTN, BP 17171, F- 30207 Bagnols-sur-Cèze Cedex.
Courriel : claud.vidaud@cea.fr

** CNRS, UMR 7265, CEA Cadarache, F-13108 Saint-Paul-lez-Durance Cedex.
Courriel : agnes.hagege@cea.fr

Ressources nationales de chimie

www.educnet.education.fr/rnchimie

RNChimie (Ressources nationales de chimie) est un site destiné aux enseignants des lycées généraux et technologiques, des BTS et des CPGE. Vous y trouverez plus de 600 protocoles de travaux pratiques, des recommandations pédagogiques, des cours, des exercices, des présentations sous forme de diaporamas télé-chargables, des fiches techniques de TP, des informations relatives à la sécurité mais aussi de l'histoire des sciences, des informations et des données sur les techniques spectroscopiques et chromatographiques dont des données expérimentales directement utilisables. Vous y trouverez également des cours, TD et applications sur les plans d'expérience (mathématiques), des cours et exercices de génie chimique, des exemples de TP basés sur la démarche d'investigation.

**RNChimie, c'est 600 pages web,
700 fichiers doc/zip, 930 documents pdf
et des dizaines de diaporamas à votre disposition !**

Test alternatif pour la toxicologie de la reproduction

Philippe Durand et Odette Prat

Résumé

Une altération sévère des paramètres reliés à la fertilité masculine a été observée en Europe et dans les pays industrialisés, associée à l'augmentation des toxiques environnementaux. Actuellement, les tests réglementaires permettant de détecter l'impact des produits chimiques sur la reproduction utilisent un grand nombre d'animaux de laboratoire. Pour des raisons éthiques, économiques et de santé publique, il est urgent de trouver des tests alternatifs utilisant moins d'animaux, moins coûteux et plus rapides. Cet article décrit une méthodologie permettant de diviser par vingt le nombre de rongeurs requis pour ces études, et par là même les délais et les coûts expérimentaux. Les auteurs, qui maîtrisent des technologies complémentaires, proposent un système original de culture *ex vivo* de tubes séminifères de rat mimant parfaitement la situation *in vivo*, ainsi qu'une batterie de tests comprenant analyse cytophysiologique et toxicogénomique. L'association d'une culture cellulaire modèle, d'une bonne connaissance de la physiologie et des techniques « omics » peut conduire en toxicologie à des applications biotechnologiques de la plus grande utilité pour l'industrie chimique et pharmaceutique.

Mots-clés

Toxicologie, spermatogenèse, culture cellulaire, physiologie, cytologie, transcriptomique, métabolomique, xénobiotiques, toxicogénomique.

Abstract

Alternative approaches for testicular toxicity

Severe impairment of parameters related to male fertility is observed in Europe and in industrialized countries, related to increased environmental toxicants. Currently the regulatory tests to detect the impact of chemicals on reproduction require a large number of laboratory animals. For ethical, economic and public health reasons, it is urgent to find alternative tests using fewer animals, less expensive and faster. This article describes a methodology to divide by 20 the number of rodents needed for such studies, and thus the experimental time and cost. The authors, specialists of complementary techniques, offer a unique system made of rat seminiferous tubules in culture, mimicking the *in vivo* situation, and a battery of interacting cytophysiological and toxicogenomic analyses. The association of a cell culture model, a good knowledge of physiology and "omics" technology can lead to biotech applications in toxicology most useful for chemical and pharmaceutical industry.

Keywords

Toxicology, spermatogenesis, cell culture, physiology, cytology, transcriptomics, metabolomics, xenobiotics, toxicogenomics.

Depuis environ cinq décennies, on observe une altération significative de la qualité du sperme dans les pays industrialisés. Selon une méta-analyse de 61 études réalisées dans le monde entier [1], le volume séminal et la concentration des spermatozoïdes de l'éjaculat ont diminué d'environ 50 % en cinquante ans. Parallèlement à l'altération des paramètres du sperme, d'autres pathologies génitales comme la cryptorchidie, l'hypospadias ou le cancer du testicule sont en constante augmentation en Europe et les autres pays industrialisés [1].

Ces troubles de la reproduction ont rapidement été associés à l'accroissement des concentrations et des variétés de toxiques dans notre environnement. Actuellement, la nouvelle réglementation REACH (Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals) impose des études toxicologiques et reprotoxicologiques pour environ 30 000 substances vendues en quantité supérieure à une tonne par an pour les enregistrements réalisés entre décembre 2010 et juin 2018. Cette réglementation concerne en particulier les substances carcinogènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction (CMR). Le rapport du « Joint Research Centre »

de la Commission européenne estime qu'environ 3 000 toxiques pour la reproduction et 2 000 toxiques pour le développement sont à tester. En même temps, il existe une forte pression sociale pour réduire le nombre d'animaux sacrifiés pour la réalisation des études toxicologiques et pour appliquer la règle des « 3R » (« reduce, refine, replace »). En effet, l'application de la réglementation REACH nécessitera le sacrifice de millions d'animaux si des tests toxicologiques classiques *in vivo* sont utilisés. Ces tests sont par ailleurs d'un intérêt limité pour la compréhension des mécanismes d'action des toxiques.

Tests alternatifs aux tests sur animaux

Une attente importante pour les besoins de REACH

Les cultures cellulaires constituent une alternative aux tests sur animaux ; elles permettent de s'affranchir des variabilités interindividuelles rencontrées *in vivo*, tout en épargnant de nombreuses vies animales. De plus, 90 % des animaux

utilisés pour les études de toxicologie (constituant 70 % des coûts de REACH) le sont pour la toxicologie de la reproduction. Il est donc essentiel pour des raisons économiques, éthiques et de santé publique, d'utiliser des méthodes alternatives pour faire évoluer la toxicologie réglementaire : c'est le sens de l'article publié en 2009 dans *Nature* par Thomas Hartung, « Toxicology for the twenty-first century » [2].

Une étude française récente de la Direction générale de la compétitivité de l'industrie et des services (Ministère de l'Économie, de l'Industrie et de l'Emploi) souligne la nécessité du « *développement de nouveaux outils plus innovants et présentant une alternative pertinente aux tests sur animaux.* » Ces tests alternatifs sont « *une attente de nombreux acteurs industriels et prestataires de services.* » Cependant, le nombre d'acteurs privés français reste limité du fait du faible nombre de prestataires développant des tests non normés OCDE [3].

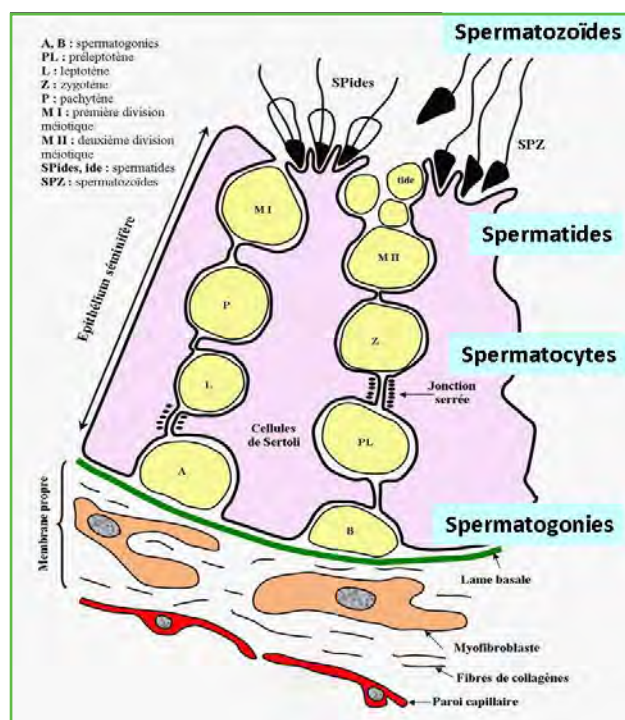
Un modèle original de test toxicologique ex vivo

Or, dans une démarche qualifiée de « physiotoxicogénomique », le Laboratoire de génomique fonctionnelle de la reproduction, dirigé par Philippe Durand, situé dans l'Institut de génomique fonctionnelle de Lyon (UMR 5242 CNRS/INRA/UCBL/ENS), a développé un modèle original de la barrière hémato-testiculaire (BHT) *ex vivo*, associant en culture des cellules testiculaires germinales et des cellules de Sertoli⁽¹⁾ chez le rat. Ce modèle permet de maintenir les jonctions nécessaires entre les différents types cellulaires et de réaliser 80 % de la différenciation des cellules germinales mâles (spermatogénèse) sur quatre semaines de cultures. Il a été validé physiologiquement par de nombreuses publications résumées dans une revue récente par Durand *et coll.* [4].

Ce laboratoire étudie les perturbations induites sur les étapes clés de la spermatogenèse par des polluants de différentes natures mais susceptibles d'agir de façon autonome et/ou synergique dans l'organisme : métaux et produits chimiques, dont certains sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens. Une caractéristique importante de ce modèle *ex vivo* pour les études de toxicologie est sa sensibilité. Il est en effet en mesure de répondre à des quantités très faibles de substances toxiques, semblables à celles trouvées dans les liquides biologiques. Par ailleurs, il faut absolument éviter de tester des concentrations trop fortes, peu ou pas en lien avec la réalité, car elles peuvent générer des réponses faussement positives. En outre, ce modèle de co-culture permet la mise en œuvre des technologies globales de la toxicogénomique, afin d'aborder les aspects mécanistiques des toxiques environnementaux sur la durée, et notamment d'éventuels mécanismes de réparation difficiles à visualiser par des approches plus classiques. Ce modèle devrait ainsi constituer une percée méthodologique pour l'évaluation toxicologique des composés chimiques, sur une période de temps relativement longue.

Un travail pluridisciplinaire

Pour ce faire, le Laboratoire de génomique fonctionnelle de la reproduction collabore avec Georges Pointis (équipe INSERM U895, Université de Nice), Odette Prat (Service de biochimie et de toxicologie nucléaire, CEA Marcoule), Marie-Roberte Guichaoua (Laboratoire de biologie de la reproduction, Hôpital de la Conception, Marseille) et Philippe Bulet (Laboratoire AGIM – AGEing Imaging Modeling –, BioPark d'Archamps). Ce consortium est né de la convergence



Coupe d'un tube séminifère et différents stades de la spermatogenèse.

stratégique entre des équipes maîtrisant des connaissances et des technologies complémentaires : un modèle original de cellules testiculaires en culture, la physiologie de la spermatogenèse, la transcriptomique et la protéomique⁽²⁾. Une batterie de tests a été mise en œuvre tels que des analyses de physiologie cellulaire, parmi lesquelles des analyses de la fonctionnalité de la barrière hémato-testiculaire (BHT), l'étude des modifications de l'expression des gènes transcrits, l'étude des perturbations cytogénétiques⁽³⁾ induites, et l'étude des modifications du protéome des cellules et des milieux de culture sous l'effet des produits polluants, seuls ou en mélange. Ces études ont permis de faire émerger des gènes/peptides/métabolites altérés susceptibles de servir de support à des tests dédiés à la toxicologie de la reproduction, du type puce à oligonucléotides, tests PCR quantitative en temps réel (qRT-PCR)⁽⁴⁾ ou tests de détection de métabolites spécifiques.

Il convient de souligner que la connaissance du mode d'action des molécules étudiées peut également aider à déterminer, dans un deuxième temps, si les observations faites chez l'animal sont transposables à l'homme, ce qui demeure un problème majeur dans ce type d'étude [5].

Le caractère pluridisciplinaire de ces études mérite d'être souligné car ce type de partenariat n'a été que très rarement réalisé en toxicologie de la reproduction entre physiologistes, cytobiologistes, biochimistes et toxicologues, et en particulier avec l'apport des techniques « omics »⁽²⁾ ou globales qui se prêtent à l'étude des mécanismes cellulaires et des échanges intercellulaires. De plus, ces techniques permettent enfin de pratiquer une biologie intégrée en fusionnant des disciplines jusque là étanches.

Applications biotechnologiques

Enfin, l'aspect applicatif de ces recherches est la conception d'un outil de criblage automatisable, mentionné

plus haut, qui doit permettre à terme de diminuer drastiquement le nombre d'animaux nécessaires aux études de reprotoxicologie (par un facteur 50) ainsi que le coût de ces études, mais aussi de générer une activité pérenne dans le secteur biotechnologique privé⁽⁵⁾.

Les gènes et métabolites déterminants pour l'altération de la spermatogenèse constituent une signature d'action de ces contaminants. De par l'éventail des xénobiotiques testés, différents par leur physico-chimie ainsi que par leurs mécanismes d'action dans l'organisme, un pool de biomolécules permet de « signer » une atteinte de la spermatogenèse. À terme, ce pool restreint de biomolécules sera intégré à un test automatisé en microplaque de mesure d'expression génique par PCR quantitative en temps réel (qRT-PCR) et/ou un test de détection de métabolites spécifiques.

Ces tests, utilisant le modèle *ex vivo* décrit plus haut, pourraient constituer une alternative économique aux tests sur animaux pour cribler des centaines de produits chimiques dont il faudra déterminer, pour des raisons réglementaires, s'ils sont toxiques pour la fertilité masculine. Dans ce type de test, c'est plus précisément leur interaction avec la spermatogenèse qui pourra être élucidée.

Notes

- (1) Les **cellules de Sertoli** se trouvent au sein des tubes séminifères des testicules ; leur principale fonction est de nourrir les cellules germinales au cours de leur différenciation en spermatozoïdes.
- (2) Le terme **omics** désigne les méthodologies d'analyse globale d'un organisme, d'un tissu ou de cellules à un moment donné et dans un environnement donné, afin de déterminer la fonction de ses gènes. Il recouvre essentiellement la **transcriptomique**, c'est-à-dire l'analyse globale des ARN messagers ou transcrits présents qui transforment les gènes en protéines, la **protéomique**, qui décrit l'ensemble des protéines présentes, et la **métabolomique**, c'est-à-dire l'ensemble des petites molécules issues du métabolisme d'un organisme.
- (3) **Cytogénétique** : étude des phénomènes génétiques au niveau de la cellule, c'est-à-dire au niveau des chromosomes sans la nécessité d'extraire l'ADN ; en particulier anomalies chromosomiques (de nombre et de structure).
- (4) **qRT-PCR** (« **quantitative real time polymerase chain reaction** ») : méthode d'amplification de l'ADN qui a révolutionné la biologie moléculaire dans les années 1980 et permis l'étude des génomes à grande échelle.
- (5) Philippe Durand est à l'origine des co-cultures permettant d'étudier la barrière hémato-testiculaire (BHT) en chambre bicamérale. Il est le co-fondateur, en mars 2012, de la start-up lyonnaise Kallistem qui sera dédiée à ces criblages (www.kallistem.com).

Références

- [1] Carlsen E., Giwercman A., Keiding N., Skakkebaek N.E., Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years, *Brit. Med. J.*, **1992**, 305, p. 609.
- [2] Hartung T., Toxicology for the twenty-first century, *Nature*, **2009**, 460, p. 208.
- [3] www.industrie.gouv.fr/portail/chiffres/rapport-toxicologie-ecotoxicologie-2010.pdf (synthèse : www.industrie.gouv.fr/portail/chiffres/synthese-toxicologie-ecotoxicologie-2010.pdf).
- [4] Perrard M.H. et coll., Analyse de la spermatogenèse *ex vivo*. Application à l'analyse de la toxicité testiculaire [European regulation REACH and the assessment of testicular toxicity], *Médecine/Sciences*, **2010**, 26, p. 305.
- [5] *Cancer : approche méthodologique du lien avec l'environnement*, Chap. 5: Environnement et cancer : apport de la toxicologie, Publication Inserm, **2005**, p. 43-50.



P. Durand

Philippe Durand

est directeur de recherche INRA, directeur scientifique de Kallistem*.

Odette Prat (auteur correspondant)

est chercheur, spécialiste de toxicogénomique environnementale, à l'Institut de biologie environnementale et de biotechnologie, CEA Marcoule**.



O. Prat

* Kallistem, École Normale Supérieure de Lyon, 46 allée d'Italie, F-69364 Lyon Cedex 07.

Courriel : philippe.durand@kallistem.com

www.kallistem.com

** Institut de biologie environnementale et de biotechnologie, Service de biochimie et de toxicologie nucléaire, CEA Marcoule, F-30207 Bagnols-sur-Cèze.

Courriel : odette.prat@cea.fr



UN LIVRE
À NE PAS
MANQUER !!

Prix : 12 €
ISBN : 978-2-7598-0707-9

Sur un ton à la fois **DRÔLE ET SÉRIeux**, l'auteure nous fait découvrir l'histoire d'un produit, les origines de ses composants, les réactions chimiques pour arriver à un tel résultat et son utilisation... bref la **PETITE CHIMIE DU MATIN** !

Chaque partie est construite autour d'une thématique. Les explications sont claires et concises et les **ILLUSTRATIONS** décalées nous emportent dans le monde de Marie Curieuse.

Achetez-le dès maintenant sur
edition-sciences.com

Évaluation de la toxicité des nouvelles molécules médicamenteuses

Principes généraux et limites actuelles

François Ballet

Résumé

La toxicité est la cause de plus de 50 % des arrêts de développement des nouvelles molécules médicamenteuses au stade préclinique ou clinique et ce taux reste inchangé depuis de nombreuses années. Dans ce contexte, l'évaluation de la toxicité doit être la plus précoce possible au cours du processus de R & D car la mise en évidence d'une toxicité rédhibitoire évite un développement inutile et coûteux et permet d'allouer les ressources sur la sélection de nouvelles molécules candidates. Lorsque le profil de tolérance du produit permet d'envisager son développement, il est essentiel de mettre en œuvre les études nécessaires pour permettre une évaluation approfondie des risques en s'efforçant notamment de détecter les effets indésirables potentiels à un stade précoce/réversible, et si possible d'identifier s'il existe des circonstances favorisant et/ou des facteurs de susceptibilité individuels. À toutes les étapes de la R & D, il est impératif d'évaluer le niveau de risque en fonction du bénéfice thérapeutique attendu pour décider de la poursuite ou non du développement de la molécule. Enfin, les agences réglementaires exigent de plus en plus souvent la mise en place d'un plan de gestion des risques, c'est-à-dire de stratégies nécessaires pour réduire les risques liés à un nouveau médicament quand il est mis sur le marché.

Mots-clés

Toxicologie, candidat médicament, sécurité du médicament, processus de R & D, évaluation du risque, bénéfice/risque, plan de gestion des risques.

Abstract

Toxicity assessment of new pharmaceuticals: general principles and current limits

Toxicity is responsible for more than 50% of project terminations of new pharmaceuticals and this rate remains unchanged for many years. In this context, toxicity assessment should be done as early as possible during the R&D process as identification of any serious toxicity leads to project termination and allows reassigning resources in the selection of new drug candidates. When the preclinical toxicity profile of the drug candidate meets the criteria for entering into clinical development, it is essential to put in place a thorough clinical safety monitoring plan aiming at detecting the potential side effects of the compound at an early/reversible stage, and if possible, identifying any contributing circumstance(s) and/or individual susceptibility factor(s). At each stage of the R&D process, it is imperative to assess the level of risk in perspective with the expected benefit of the drug in order to take an appropriate go/no go decision. Finally the regulatory agencies are requesting more and more frequently a formal risk management plan, i.e. an appropriate strategy to mitigate the safety risks associated with a new drug after launch.

Keywords

Toxicology, drug candidate, drug safety, R&D process, risk assessment, benefit/risk, risk management plan.

Malgré les progrès considérables accomplis en biologie et le développement sans précédent des nouvelles technologies d'investigation du vivant, la toxicité des molécules reste un facteur limitant important dans la découverte et le développement de nouveaux médicaments. La toxicité d'une molécule est la cause de plus de 50 % des arrêts de développement des nouvelles molécules au stade préclinique (2/3 des cas) ou clinique (1/3 des cas) [1]. Par ailleurs, une stratégie inadéquate dans ce domaine peut être lourde de conséquence pour le patient (effet secondaire grave se traduisant par des séquelles irréversibles, voire le décès du patient) et/ou pour le laboratoire (retrait du marché, conséquences judiciaires et financières, impact sur la valorisation boursière, l'image, etc.).

Cet article a pour objectif de discuter les principes généraux de l'évaluation toxicologique des nouvelles molécules médicamenteuses au cours des différentes phases de R & D – recherche, développement préclinique et clinique – et d'indiquer quelles en sont les limites actuelles.

Évaluation de la toxicité en phase de recherche

Il est important de souligner que le fait de disposer très tôt, au cours du processus de R & D, d'informations clés sur le profil toxicologique d'une molécule est un avantage stratégique majeur pour une entreprise. En effet, les décisions d'arrêt de développement (« no go ») peuvent être prises

plus précocement, ce qui évite d'engager des études inutiles et coûteuses et permet de réallouer le budget sur la recherche de nouvelles molécules (« back-ups »), et par ailleurs, ces informations sont des éléments clés pour élaborer la stratégie de développement et permettent de mieux positionner le produit par rapport à la concurrence.

Littérature scientifique et environnement concurrentiel

Avant même qu'une molécule soit découverte, l'analyse de la littérature peut donner des informations importantes sur sa toxicité potentielle à partir de la connaissance de la cible moléculaire ou de la voie de signalisation visée par le médicament, notamment quand des médicaments ont déjà été développés dans la même famille pharmacologique. Par exemple, les molécules qui inhibent des récepteurs impliqués dans l'angiogenèse*, tels que le récepteur au VEGF (« vascular endothelial growth factor »), sont associées à un risque de toxicité vasculaire (hypertension artérielle) ou cardiaque. Les inhibiteurs du récepteur EGF (« epidermal growth factor ») sont souvent à l'origine d'une toxicité cutanée.

Relation structure-activité (QSAR) et approches *in silico*

Certains logiciels permettent d'étudier la relation structure-activité à partir de certaines structures chimiques à risque (structures alerte ou toxicophores*). Une autre approche consiste à utiliser des systèmes experts (par exemple DEREK) capables de prédire la toxicité à partir d'un certain nombre de règles préétablies validées sur un grand nombre de molécules. Par ailleurs, de nouvelles approches se développent permettant de prédire le potentiel d'interaction avec des cibles pouvant être responsables d'effets secondaires potentiels [2-4]. L'analyse est fondée sur le degré de similarité avec d'autres molécules ayant des effets secondaires établis ou avec des pharmacophores* connus pour interagir avec certaines cibles. Un aspect particulièrement intéressant de ces tests est de pouvoir découvrir de nouvelles propriétés pharmacologiques d'une molécule, et ainsi de la « repositionner » dans d'autres indications thérapeutiques [4].

Criblage moléculaire

Les tests *in vitro* de liaison aux récepteurs, aux canaux ioniques, à certaines enzymes et autres cibles moléculaires pharmacologiques ou toxiques potentielles donnent des indications capitales sur le profil toxicologique potentiel d'une nouvelle molécule en développement [5]. En effet, un mécanisme important de toxicité est la fixation de la molécule sur une autre cible que celle visée pour obtenir l'effet thérapeutique (effet « off target »). Il peut s'agir d'une cible proche : un exemple classique est celui de la toxicité digestive des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui résulte de l'inhibition de la cyclooxygénase de type 1 (Cox1), alors que l'activité anti-inflammatoire est liée à l'inhibition de la cyclooxygénase de type 2 (Cox2). Un exemple plus récent est celui des valvulopathies cardiaques induites par les dérivés de la fenfluramine utilisés dans le traitement du diabète ou de l'obésité qui résultent d'une activation du récepteur 5-HT2B au niveau des valves cardiaques. Des sociétés de service spécialisées permettent de réaliser ces tests sur des centaines de récepteurs ou cibles potentielles pouvant être associés à des effets indésirables.

Glossaire

Les termes suivis d'un astérisque* dans le texte sont définis ci-dessous.

Affection intercurrente : maladie qui se déclenche au cours d'une autre maladie.

Agoniste : molécule qui active certains récepteurs (protéines).

Angiogenèse : processus décrivant la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (néovascularisation) à partir de vaisseaux préexistants. C'est un processus physiologique normal, que l'on retrouve notamment lors du développement embryonnaire. Mais c'est aussi un processus pathologique, primordial dans la croissance des tumeurs malignes et le développement des métastases.

Cellules souches pluripotentes induites (iPS) : cellules adultes reprogrammées pour retrouver les mêmes potentialités que les cellules souches embryonnaires.

Cholestase : diminution ou arrêt de la sécrétion biliaire pouvant conduire à un ictère (jaunisse).

Clastogène : se dit d'un agent qui provoque des cassures de chromosomes.

Idiosyncrasie (du grec *idiosugkrasia* : tempérament particulier) : comportement particulier d'un individu face aux influences de divers agents extérieurs ; par exemple, on parle d'idiosyncrasie immunitaire lorsque deux individus réagissent différemment à un agent pathogène.

Immunohistochimie : méthode de localisation de protéines dans les cellules d'une coupe de tissu, par la détection d'antigènes au moyen d'anticorps.

Néoantigène : antigène normalement non exprimés dans les tissus.

Pharmacophore : ensemble d'atomes disposés selon un arrangement spatial constituant une partie pharmacologiquement active d'une molécule ; les pharmacophores servent de modèles dans la conception de médicaments.

Pharmacovigilance : a pour objet la surveillance du risque d'effet indésirable résultant de l'utilisation des médicaments et produits à usage humain (article R. 5121-150 du Code de la santé publique).

Pléiotropie (du grec *pleion* : plus, et *tropê* : changement) : qualifie un gène qui détermine plusieurs caractères phénotypiques ; le phénotype induit par une mutation de ce gène n'est donc pas le reflet de l'effet sur une seule et unique fonction induite par ce gène, mais la combinaison des effets sur plusieurs de ces caractères.

Polymorphisme (du grec *poly* : plusieurs, et *morphê* : forme) : coexistence de plusieurs allèles pour un gène ou locus donné, conduisant, pour une espèce au sein d'une même population, à plusieurs individus aux caractères phénotypiques différents ; ces variations sont liées aux mutations génétiques et aux différentes adaptations.

Système HLA : les molécules du système HLA (« huma leucocyte antigen »), également appelé « complexe majeur d'histocompatibilité » (CMH), sont des molécules à la surface des cellules qui permettent l'identification par le système immunitaire.

Toxicophore (ou structure alerte) : fonction ou groupe au sein d'une molécule considéré comme responsable des propriétés toxiques.

D'autres exemples de relation entre la fixation à une cible moléculaire et un effet indésirable sont présentés dans le tableau.

Il est important de souligner qu'une forte affinité *in vitro* pour une cible moléculaire connue pour pouvoir déclencher un effet indésirable constitue un signal d'alerte, mais ne signifie pas pour autant que la toxicité sera limitante pour le développement.

Exemples de cibles moléculaires associées à des effets indésirables potentiels.

Agoniste : molécule qui a les mêmes propriétés qu'une autre molécule et qui active certains récepteurs ; **dyskinésie** : activité motrice involontaire.

Cible	Nature	Effet moléculaire	Toxicité
hERG	canal K ⁺	inhibition	cardiaque : prolongation de l'intervalle QT, torsades de pointe
5HT2b	récepteur sérotoninergique	agoniste	valvulopathie cardiaque
ER	récepteur aux œstrogènes	agoniste	effet œstrogénique, altération de la fonction de reproduction
Cox1	enzyme (cyclooxygénase)	inhibition	toxicité digestive
Canal Na ⁺	canal Na ⁺	inhibition	effet proconvulsivant
CB1	récepteur cannabinoïde	agoniste	dépression
Dopamine D2	récepteur dopaminergique	agoniste	dyskinésie

Transport cellulaire, métabolisme et métabolites réactifs

L'interaction des molécules médicamenteuses avec les transporteurs cellulaires, les enzymes du métabolisme et les récepteurs qui les modulent (Ah, PXR, FXR...) peut conduire à des effets toxiques [6-8].

Ainsi, il a été montré que certains polymorphismes* du gène codant pour le transporteur hépatique des statines (OATP1B1) étaient associés à un risque accru de toxicité musculaire et que ce risque était lié à une augmentation des concentrations plasmatiques [6].

Le cytochrome P450 représente une famille d'enzymes extrêmement diversifiée (57 P450 dont cinq majoritaires chez l'homme) qui est responsable d'environ 75 % du métabolisme de l'ensemble des médicaments. Ces enzymes catalysent des réactions d'oxydation des substrats dites de phase 1 ; ils sont localisés dans de nombreux organes et sont particulièrement abondants au niveau du foie et de l'intestin grêle. L'activité du P450 peut conduire à la production de métabolites réactifs électrophiles et peut varier sous l'effet de différents mécanismes : polymorphisme des gènes codant pour l'enzyme, induction ou inhibition.

Une inhibition du cytochrome P450 peut être la conséquence du métabolisme du produit lui-même (par exemple en cas de fixation covalente d'un métabolite réactif) ou d'un autre produit administré de façon concomitante et également métabolisé par le P450 [7]. Celle-ci peut entraîner une augmentation des taux circulants et l'apparition d'effets indésirables liés à un effet pharmacologique exagéré [9].

L'interaction d'une molécule avec certains récepteurs nucléaires comme Ah, CAR, PXR et PPAR peut entraîner une induction de certains P450 [8]. De façon concomitante, ces récepteurs peuvent stimuler la prolifération cellulaire hépatique et conduire dans certaines

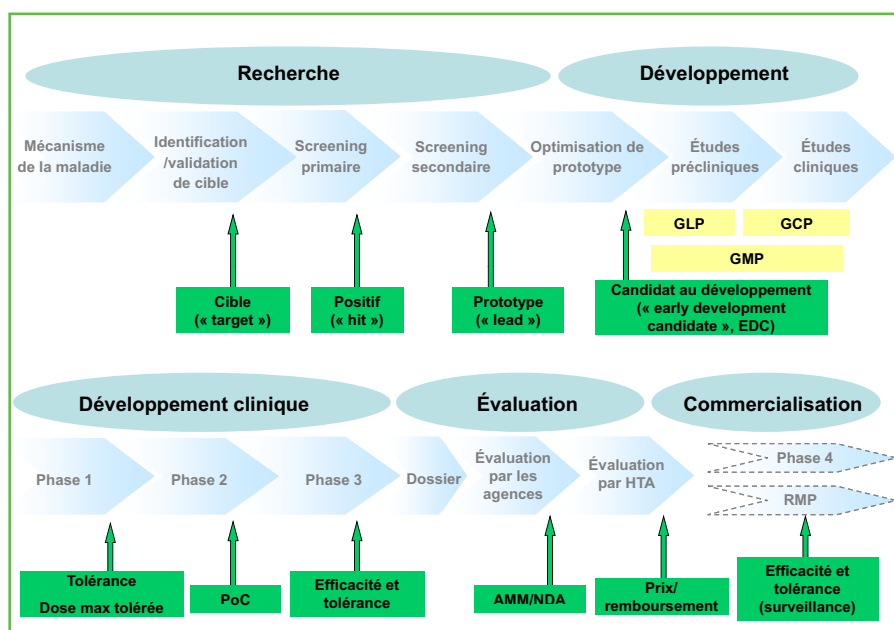
espèces animales, en particulier chez le rongeur, à une hypertrophie et à une hyperplasie du foie susceptibles de favoriser l'apparition de carcinomes hépatocellulaires après administration prolongée [10]. Il est maintenant bien établi que ces effets pléiotropiques* sont spécifiques du rongeur et ne sont pas corrélés à un risque carcinogène chez l'homme. Ceci est bien démontré pour les agonistes* du récepteur PPAR alpha comme les fibrates, prescrits chez l'homme depuis plus de trente ans.

Enfin, des effets toxiques peuvent résulter d'une inhibition de certains transporteurs en charge de l'efflux cellulaire des molécules. Ainsi au niveau du foie, une toxicité hépatique peut résulter de l'inhibition de BSEP, transporteur des acides biliaires dans la bile, qui entraîne une accumulation d'acides biliaires dans l'hépatocyte et une cholestase* [11].

Les métabolites réactifs sont une cause fréquente de toxicité [12]. La mise en évidence de métabolites réactifs est un signal d'alerte, mais ne traduit pas nécessairement un potentiel de toxicité particulier. En effet, certains médicaments largement prescrits peuvent donner lieu à une fixation covalente aux protéines alors qu'ils ne posent pas de problème de toxicité particulier [12]. Il est vraisemblable qu'un élément déterminant dans le potentiel toxique des métabolites réactifs est non pas le niveau global de fixation covalente aux protéines, mais plutôt leur capacité à se fixer sélectivement sur certaines protéines critiques pour le fonctionnement cellulaire, conduisant ainsi à la mort cellulaire [13]. Un autre mécanisme est l'alkylation d'une protéine particulière conduisant à la formation d'un néoantigène* susceptible de déclencher une réaction immunoallergique accompagnée d'auto-anticorps spécifiques [14].

Toxicologie génétique

Certains tests permettent de détecter le pouvoir mutagène ou clastogène* des molécules au stade de recherche



Principales étapes de la R & D pharmaceutique.

AMM/NDAs : autorisation de mise sur le marché pour un nouveau médicament ; GCP : « good clinical practices » ; GLP : « good laboratory practices » ; GMP : « good manufacturing practices » ; HTA : « health technology assessment » (évaluation du service médical rendu) ; PoC : preuve de concept ; RMP : « risk management plan » (plan de gestion des risques).

– habituellement au stade de prototype (« lead ») [15]. Les deux tests les plus utilisés sont le test d'Ames, qui détecte des mutations de l'ADN, et le test du micronoyau *in vitro* sur cellules de lymphome de souris, qui détecte des anomalies chromosomiques. L'avantage de ces tests est qu'ils nécessitent peu de produits et peuvent être automatisés.

Tests de toxicité cellulaire *in vitro*

Les développements récents des méthodes de culture de cellules ainsi que les progrès accomplis dans le domaine des cellules souches permettent actuellement de disposer de modèles cellulaires *in vitro* représentatifs de nombreux tissus dans lesquels de nombreuses fonctions différenciées sont maintenues pendant plusieurs jours ou même parfois semaines [16-17]. Les modèles humains peuvent être établis à partir de cellules isolées de fragments de tissus obtenus à partir de biopsies ou de résections chirurgicales. Une autre approche beaucoup plus récente est l'utilisation de cellules de lignées différenciées d'origine humaine obtenues par la technologie des cellules souches pluripotentes induites* (IPS) [18].

Certaines technologies récentes permettent l'analyse simultanée de nombreux paramètres cellulaires morphologiques ou biochimiques en utilisant des marqueurs d'imagerie cellulaire (techniques de « high content screening ») [19].

En pratique, il est rare que ces tests soient réalisés en routine de façon systématique au cours du développement d'une nouvelle molécule [17]. En effet, ils sont difficiles à mettre en œuvre, leur reproductibilité n'est souvent pas optimale et surtout, en l'absence de données chez l'animal, leur valeur prédictive est insuffisante pour prendre la décision d'arrêter le développement de la molécule. En revanche, lorsqu'une nouvelle molécule est arrêtée en raison d'une toxicité d'organe mise en évidence par des études sur l'animal ou au cours des essais cliniques, ces tests peuvent permettre de sélectionner une nouvelle molécule dans une autre série chimique. Un point essentiel pour que cette stratégie puisse être mise en œuvre est la nécessité de valider le modèle cellulaire par la molécule toxique, en montrant qu'il est possible de reproduire *in vitro* la toxicité observée *in vivo* à des concentrations pertinentes par rapport aux données *in vivo* [17].

Études de toxicologie courtes

De nombreux effets toxiques rédhibitoires peuvent être détectés par des études de toxicologie d'une semaine chez le rat [1]. Ces études sont conduites selon les principes habituels des études de toxicologie et sont souvent suffisantes pour mettre en évidence une toxicité d'organe, par exemple hépatique ou rénale, et déterminer si la marge de sécurité est suffisante. Elles nécessitent une quantité limitée de produit et ne sont pas aussi lourdes que les études qui font partie du « package » réglementaire avant les études cliniques de phase 1. En particulier, elles ne nécessitent pas l'utilisation d'un lot de produit fabriqué selon des normes de bonnes pratiques de fabrication (BPF). Il est habituel de compléter ces études chez le rat par une étude sur une espèce non rongeur, en général le chien, à doses croissantes par paliers de quelques jours. Ces deux types d'étude sont habituellement conduits au stade de prototype (« lead ») et font partie des critères décisionnels pour sélectionner un candidat médicament. Les principaux critères sont discutés plus loin.

Étude de la toxicité sur des modèles expérimentaux de maladie

Les études de toxicologie sont conduites sur des animaux sains, ce qui ne permet pas d'étudier l'influence d'une pathologie préexistante sur l'apparition d'un phénomène toxique. Par exemple, on sait que la cholestase est favorisée par les infections graves et que certaines hépatites médicamenteuses sont favorisées par l'inflammation hépatique. Par ailleurs, certains effets toxiques ne s'observent que dans des modèles qui expriment la cible induisant la réponse pharmacologique. Pour ces raisons, l'étude de certains paramètres toxicologiques (par exemple transaminases, histopathologie de certains organes) sur les modèles expérimentaux de maladie au cours des études de pharmacologie devrait être plus systématique.

Hybridation *in situ* et distribution

Enfin, les études de distribution avec produit marqué ou de la localisation dans différents organes et/ou tissus par immunohistochimie* lorsqu'il s'agit de développer un anticorps à visée thérapeutique peuvent alerter sur certains risques, par exemple en cas d'accumulation ou de localisation inattendue dans certains organes.

Transcriptomique, protéomique et métabolomique

Depuis près d'une quinzaine d'années, les techniques d'analyse à large échelle du transcriptome, du protéome, ou plus récemment du métabolome, sont utilisées en toxicologie. Un intérêt majeur de ces techniques est qu'elles permettent une étude du transcriptome ou du protéome à large échelle, sans *a priori* sur un mécanisme particulier. Il a ainsi été montré que ces approches étaient utiles pour préciser le mécanisme d'action de certaines molécules hépatotoxiques et qu'il était également possible de classer correctement en aveugle différents types de molécules hépatotoxiques à partir de leurs « signatures » spécifiques [20].

Évaluation de la toxicité en phase de développement préclinique

La méthodologie des études de pharmacologie de sécurité et de toxicologie réglementaire (études de toxicologie génétique, générales et de la reproduction) requises pour pouvoir tester un nouveau médicament chez l'homme et le mettre sur le marché ne sera pas développée ici. Nous nous limiterons aux principes généraux de l'évaluation des données des études de toxicologie générale chez l'animal. Les études de toxicologie sont conduites sur deux espèces animales rongeur (le plus souvent le rat) et non rongeur (le plus souvent le chien). L'évaluation d'un effet toxique se fonde principalement sur la marge de sécurité du produit qui est le rapport entre la dose sans effet dans l'espèce la plus sensible (NOAEL, « no observable adverse effect level ») et la dose thérapeutique envisagée, c'est-à-dire à ce stade de développement du produit, la dose trouvée active dans les modèles expérimentaux. Il est recommandé de faire également ce calcul en utilisant les concentrations plasmatiques de façon à tenir compte des différences d'expositions qui peuvent varier pour une dose donnée en fonction des espèces et ainsi de calculer le « rapport d'exposition ». Idéalement, une

marge de sécurité de 5 à 10 est souhaitable, mais d'autres facteurs doivent être pris en considération pour l'évaluation du risque toxique et la décision de poursuivre ou non le développement du produit [1, 21].

Ces facteurs sont notamment :

- le type de toxicité observé ;
- son caractère réversible ou non ;
- l'existence ou non de biomarqueurs sensibles et spécifiques permettant de détecter la toxicité à un stade précoce (par exemple transaminases pour l'hépatotoxicité, créatine phosphokinases (CPK) pour la toxicité musculaire) [22] ;
- l'extrapolation de la toxicité à l'homme, et notamment la relation entre l'effet toxique et le métabolisme du produit qui peut varier selon les espèces ;
- enfin et surtout : le bénéfice apporté par le nouveau traitement.

Un dernier critère fondamental pour évaluer un risque toxique est le bénéfice attendu pour le malade. En effet, un risque toxique doit toujours être mis en perspective avec l'intérêt thérapeutique, c'est-à-dire qu'il est toujours nécessaire de raisonner en prenant en compte le rapport bénéfice/risque. Ainsi par exemple, il peut être légitime de développer un nouvel anticancéreux ayant un risque d'hépatotoxicité modéré si les études de pharmacologie mettent en évidence un effet thérapeutique significatif dans des tumeurs résistantes aux molécules sur le marché, alors que ceci ne peut évidemment pas être envisagé pour un hypnotique ou un produit destiné à traiter l'obésité [21].

Diverses raisons peuvent expliquer qu'un effet indésirable observé en clinique n'ait pas été détecté dans les études de toxicologie sur l'animal :

- l'administration de doses insuffisantes dans les études de toxicologie (qui peuvent avoir été limitées par l'activité pharmacologique du produit, par exemple sédation, hypotension, etc.) ;
- le fait que les espèces utilisées en toxicologie ne répondent pas à la molécule sur le plan pharmacologique (cas fréquent des anticorps monoclonaux humains, d'où la nécessité d'utiliser des anticorps de substitution (« surrogate ») spécifiques des espèces animales utilisées) ;
- le fait que l'effet toxique soit la conséquence d'un métabolisme spécifique à l'homme ;
- ou enfin que l'effet toxique soit de type idiosyncratique*.

La toxicité idiosyncratique est un effet toxique qui n'apparaît que chez un très faible nombre d'individus réagissant aux doses thérapeutiques, souvent uniquement lorsque le médicament est mis sur le marché et qu'un nombre important de patients ont été exposés. Les mécanismes de ce type de toxicité sont multifactoriels et dépendant à la fois de facteurs de susceptibilité individuels, en particulier d'origine génétique, et de facteurs exogènes* [23]. Il n'est donc pas surprenant que ce type de toxicité ne puisse pas être détecté dans les espèces animales utilisées en toxicologie, c'est-à-dire chez des animaux jeunes, sains, identiques sur le plan génétique et élevés dans un environnement dont les paramètres sont parfaitement contrôlés.

Lorsqu'un effet toxique est considéré réhibitoire sur la base des critères vus plus haut, le développement du produit est arrêté. À titre d'exemple, l'apparition de cataractes, d'une toxicité rénale avec une faible marge de sécurité ou de convulsions inexplicables peut conduire à arrêter le développement d'un produit. Ceci n'implique pas forcément l'arrêt du programme de recherche si d'autres prototypes (« leads ») ayant des propriétés pharmacologiques comparables sont disponibles (« back-ups »). Il est évidemment souhaitable avant de prendre cette décision de savoir si la



© Fotolia/Ivan Josifovic.

toxicité observée n'est pas liée à l'activité pharmacologique du produit, autrement dit n'est pas un effet « de classe », car si c'est le cas, il y a peu de chance d'identifier une nouvelle molécule ayant un profil de toxicité acceptable. En pratique, ce sont souvent les données des études de toxicologie *in vivo* faites avec une ou plusieurs molécules appartenant à la même classe pharmacologique, mais ayant une structure chimique différente, qui permettront de conclure. Bien souvent, la mise en évidence d'une toxicité chez l'animal ne conduit pas à l'arrêt du développement de la molécule car les effets ne s'observent qu'à fortes doses avec une marge de sécurité suffisante et peuvent éventuellement être suivis par des biomarqueurs prédictifs, comme par exemple pour une hépatotoxicité [21]. Dans ce cas, la connaissance des organes cibles potentiels est fondamentale pour déterminer les paramètres à suivre pour les essais cliniques de phase 1 et peut justifier un monitoring renforcé adapté à l'effet toxique anticipé. Cette information est également cruciale pour l'élaboration des protocoles de surveillance des patients dans les essais cliniques de phases 2 et 3.

Évaluation clinique de la toxicité

La recherche des effets indésirables est un objectif majeur des essais cliniques réalisés avant la mise sur le marché. Les études de phase 1 ont pour objectif de déterminer le profil de tolérance du produit et la dose maximum tolérée. Ces données servent de base à l'établissement des doses pour les études de phase 2 qui ont pour but de démontrer l'activité du produit dans l'indication visée. Les études de phase 3 sont les études à grande échelle qui permettent de confirmer l'activité et de déterminer le profil de tolérance.

Une étape majeure dans l'analyse d'anomalies biologiques ou cliniques observées dans un essai clinique évoquant un effet indésirable est de déterminer si ce « signal » est lié ou non au traitement, c'est-à-dire en pratique d'étudier les critères d'imputabilité. En effet, l'observation d'une élévation des transaminases, de douleurs abdominales ou d'une éruption cutanée au cours d'un essai clinique ne signifie pas nécessairement que cet événement soit lié à la nouvelle molécule. Il peut être lié à un autre médicament pris par le malade, à l'évolution de la maladie sous-jacente ou à une affection intercurrente*.

Deux critères d'imputabilité sont particulièrement importants : le délai d'apparition des anomalies compatible avec la prise médicamenteuse, c'est-à-dire dans les jours ou semaines qui suivent la première prise du médicament, et la régression, voire la disparition des anomalies quand le traitement est arrêté (« déchallenge »).

Limite des essais cliniques pour la détection des effets indésirables

Les essais cliniques permettent en général de détecter les principaux effets secondaires du produit, mais ils ont certaines limites.

En premier lieu, les études cliniques sont conçues avant tout pour mettre en évidence l'activité du produit, et en conséquence les hypothèses retenues pour déterminer la taille de l'échantillon se fondent d'abord et avant tout sur l'effet thérapeutique anticipé et non sur la toxicité potentielle. De ce fait, les essais cliniques ont souvent une taille insuffisante pour mettre en évidence certains types d'effets indésirables. En effet, il n'est pas rare que la fréquence de certains effets secondaires de type idiosyncratique soit inférieure à 1/10 000, d'où la très grande difficulté, voire l'impossibilité de les détecter au cours du développement clinique qui doit comprendre au moins deux études pivot de phase 3, c'est-à-dire au maximum l'inclusion d'un total de 10 à 20 000 patients.

Un autre facteur limitant est que la durée d'administration du produit dans les essais cliniques est souvent inférieure à la durée de prescription habituelle une fois le produit mis sur le marché.

Par ailleurs, la population incluse dans l'essai est une population sélectionnée dont peuvent avoir été exclues certaines catégories de patients, comme par exemple des sujets âgés et/ou ayant un risque particulier d'effet indésirable du fait d'une affection préexistante et/ou d'un traitement associé, etc. De plus, les patients inclus dans un essai clinique bénéficient d'une surveillance médicale renforcée et d'une information systématique sur les risques liés au traitement et/ou à la consommation d'autres médicaments, d'alcool, etc.

Les effets secondaires liés au produit peuvent être des effets inattendus et/ou jusqu'alors non considérés comme pouvant être d'origine médicamenteuse, ce qui rend leur détection difficile. À titre d'exemple, la relation entre les tendinites et les ruptures de tendon et la prise de quinolones n'a été mise en évidence qu'après plusieurs années de mise sur le marché, car ce type d'effet secondaire n'avait jamais été rapporté à large échelle en dehors de quelques cas anecdotiques observés avec certains médicaments.

L'ensemble de ces raisons explique que certains effets secondaires ne soient détectés qu'après plusieurs mois, voire plusieurs années de commercialisation et justifie la mise en place systématique de mesures de surveillance post-marketing qui doivent être adaptées en fonction du produit.

Dans ce contexte, la recherche de biomarqueurs prédictifs pour identifier à l'avance les patients susceptibles revêt un intérêt considérable.

L'hépatotoxicité des médicaments est un domaine où la recherche de biomarqueurs de susceptibilité est particulièrement active, car ce type de toxicité est souvent idiosyncratique et difficilement détecté dans les essais cliniques. Les études récentes de recherche de polymorphisme génétique sur l'ensemble du génome d'individus atteints d'hépatites médicamenteuses (« genomewide association studies », GWAS) ont mis en évidence des associations statistiquement significatives avec certains polymorphismes des gènes du système HLA (« huma leucocyte antigen »)* [24], ce qui suggère que des anomalies dans la réponse immunitaire

jouent un rôle dans le déclenchement de ces hépatites. Cependant, comme cela a été mentionné plus haut, les données récentes suggèrent que c'est la combinaison d'un ensemble de facteurs génétiques et non génétiques qui détermine le risque de toxicité idiosyncratique. On peut donc penser que l'identification des patients à risque nécessitera la combinaison de plusieurs paramètres et le développement d'algorithmes prédictifs [23].

Évaluation du risque et rapport bénéfice/risque

Un effet indésirable doit toujours être évalué selon un processus en deux étapes : quel est l'importance du risque ? Et est-ce que ce risque est acceptable compte tenu du bénéfice attendu ?

L'importance du risque lié à un effet indésirable est évaluée sur plusieurs critères, en particulier :

- le type de toxicité et sa sévérité ;
- l'évolution dans le temps, en particulier la réversibilité après arrêt du traitement ;
- les conséquences pour le patient (nécessité d'une hospitalisation, séquelles éventuelles, risque de décès, etc.) ;
- la fréquence de l'effet par rapport au groupe contrôle ;
- les risques additionnels liés à la population traitée (coadministration de certains médicaments, etc.) ;
- le mécanisme de l'effet toxique, en particulier la relation avec la dose et/ou les concentrations plasmatiques et le lien avec l'activité pharmacologique du produit ;
- l'identification de facteurs de risque associés, par exemple : maladie préexistante autre que celle justifiant

le traitement, prise d'alcool ou d'un autre médicament ;

- l'identification de biomarqueurs de prédiction du risque permettant d'exclure les patients susceptibles et/ou de biomarqueurs de détection de l'effet toxique permettant

la mise en place d'un monitoring efficace [22] ;

- les données de pharmacovigilance* accumulées éventuellement avec des molécules de la même classe déjà sur le marché.

In fine, c'est l'analyse du risque en relation avec le bénéfice qui constitue l'étape ultime et probablement la plus difficile de l'évaluation de la sécurité d'un nouveau médicament. En effet, le risque est une notion relative qui doit toujours être mise en perspective avec le bénéfice attendu. Ce principe fondamental s'applique à de nombreux domaines, mais est évidemment tout particulièrement pertinent quand il s'agit d'évaluer un nouveau médicament qui peut apporter un bénéfice considérable au malade. L'étape décisive de cette analyse se situe à la fin des études cliniques et est un point de décision majeur avant la soumission du dossier d'enregistrement aux agences réglementaires.

Différents modèles théoriques ont été proposés pour évaluer le rapport bénéfice/risque [25]. Cependant, il n'existe pas à ce jour de méthodologie de référence et de « guideline » officielle pour cette évaluation qui est essentiellement qualitative, consistant à mettre en balance l'ensemble des bénéfices et l'ensemble des risques, et qui repose principalement sur l'opinion d'un comité interne à l'entreprise et/ou d'un panel d'experts externes. Cette analyse est évidemment un élément central de l'évaluation faite par les agences réglementaires quand le dossier d'enregistrement du nouveau médicament est déposé.

Dans le cas où des médicaments sont déjà sur le marché dans l'indication visée, la comparaison des rapports bénéfice/

le risque est une notion relative qui doit toujours être mise en perspective avec le bénéfice attendu

risque du nouveau médicament par rapport à ceux déjà existants est un élément déterminant pour juger de son intérêt thérapeutique et facilite cette évaluation. C'est ainsi par exemple que le lumiracoxib, un anti-inflammatoire inhibiteur sélectif de Cox2 qui présentait un risque significatif d'hépatotoxicité, n'a pas été approuvé car des molécules équivalentes étaient déjà sur le marché [26].

En revanche, il est clair que lorsqu'un médicament est le premier dans sa classe pharmacologique, l'évaluation du rapport bénéfice/risque est beaucoup plus difficile car la comparaison avec des molécules déjà sur le marché est alors impossible. De nombreux exemples récents montrent que les agences réglementaires appliquent souvent strictement le principe de précaution, ce qui peut conduire à ne pas donner l'autorisation de mise sur le marché alors même que les comités d'experts considèrent que le bénéfice/risque est favorable. En réalité, pour certains experts [27], la mise sur le marché d'un nouveau médicament pourrait être plus souvent autorisée dans le cadre d'un processus progressif avec une surveillance rigoureuse et une revue régulière du rapport bénéfice/risque. Cette stratégie permettrait ainsi d'évaluer le produit sur une plus grande population dans des conditions réelles de prescription, et donc de mieux déterminer son potentiel thérapeutique ainsi que les risques qui y sont associés.

Références

- [1] Kramer J.A., Sagarz J.E., Morris D.L., The application of discovery pathology toward the design of safer pharmaceutical and lead candidates, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2007**, 6, p. 636.
- [2] Keiser M.J. et al., Predicting new molecular targets for known drugs, *Nature*, **2009**, 462, p. 175.
- [3] Scheiber J., Jenkins J.L., Sukuru S.C., Bender A., Mikhailov D. et al., Mapping adverse drug reactions in chemical space, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, p. 3103.
- [4] Yang L., Agarwal P., Systematic repositioning based on clinical side effects, *PLoS ONE*, **2011**, 6, e28025.
- [5] Cavero I., Exploratory safety pharmacology: a new safety paradigm to de-risk drug candidates prior to selection for regulatory science investigation, *Expert Opin. Drug Saf.*, **2009**, 8, p. 627.
- [6] Zolk O., Fromm M.F., Transporter-mediated drug uptake and efflux: important determinants of adverse drug reactions, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **2011**, 89, p. 798.
- [7] Johnson W.W., Cytochrome 450 inactivation by pharmaceuticals and phytochemicals: therapeutic relevance, *Drug Metab. Rev.*, **2008**, 40, p. 101.
- [8] Stanley L.A., Horsburgh B.C., Ross J., Scheer N., Wolf C.R., PXR and CAR: nuclear receptors which play a pivotal role in drug disposition and chemical toxicity, *Drug Metab. Rev.*, **2006**, 38, p. 515.
- [9] Wormhoudt L.W., Commandeur J.N.M., Vermeulen N.P.E., Genetic polymorphisms of human N-acetyltransferase, cytochrome P450, glutathione-S-transferase and epoxide hydrolase enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity, *CRC Rev. Toxicol.*, **1999**, 29, p. 59.
- [10] Maronpot R.R., Yoshizawa K., Nyska A., Harada T., Flake G. et al., Hepatic enzyme induction: histopathology, *Toxicol. Pathology*, **2010**, 38, p. 776.
- [11] Wagner M., Zollner G., Trauner M., New molecular insight into the mechanisms of cholestasis, *J. Hepatol.*, **2009**, 52, p. 565.
- [12] Park B.K., Boobis A., Clarke S., Goldring C.E.P., Jones D. et al., Managing the challenge of chemically reactive metabolites in drug development, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2011**, 10, p. 292.
- [13] Boelsterli U.A., Specific targets of covalent drug-protein interaction in hepatocytes and their toxicological significance in drug-induced liver injury, *Drug Metab. Rev.*, **1993**, 25, p. 395.
- [14] Lecoq S., Bonierbale E., Challine D., Gautier J.C., Valadon P., Dansette P.M. et al., Specificity of *in vitro* covalent binding of tienilic acid metabolites to human liver microsomes in relationship to the type of hepatotoxicity: comparison with two hepatotoxic drugs, *Chem. Res. Toxicol.*, **1994**, 7, p. 434 ; Beaune P.H., Dansette P.M., Mansuy D., Kiffel L., Finck M., Amar C. et al., Human antiendoplasmic reticulum autoantibodies appearing in a drug-induced hepatitis are directed against a human liver cytochrome that hydroxylates the drug, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1987**, 84, p. 551.
- [15] Custer L.L., Sweder K.S., The role of genetic toxicology in drug discovery and optimization, *Curr. Drug. Metab.*, **2008**, 9, p. 978.
- [16] Guillouzo A., Liver cell models in *in vitro* toxicology, *Environ. Health Perspect.*, **1998**, 106 (suppl. 2), p. 511.
- [17] Davila J.C., Rodriguez R.J., Melchert R.B., Acosta D., Predictive value of *in vitro* models in toxicology, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **1998**, 38, p. 63.
- [18] Anson B.D., Kolaja K.L., Kamp T.J., Opportunities for use of human iPS cells in predictive toxicology, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **2011**, 89, p. 754.
- [19] Xu J.J., Henstock P.V., Dunn M.C., Smith A.R., Chabot J.R. et al., Cellular imaging predictions of clinical drug-induced liver injury, *Toxicol. Sci.*, **2008**, 105, p. 97.
- [20] Ellinger-Ziegelbauer H., Adler M., Amberg A., Brandenburg A., Callanan J.J. et al., The enhanced value of combining conventional and "omics" analyses in early assessment of drug-induced hepatobiliary injury, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **2011**, 252, p. 97.
- [21] Ballet F., Hepatotoxicity in drug development: detection, significance and solutions, *J. Hepatol.*, **1997**, 26(S), p. 26.
- [22] Sistare F.D., Dieterle F., Troth S., Holder D.J., Gerhold D. et al., Toward consensus practices to quantify safety biomarkers for use in early drug development, *Nat. Biotech.*, **2010**, 28, p. 446.
- [23] Ulrich R.G., Idiosyncratic toxicity: a convergence of risk factors, *Annu. Rev. Med.*, **2007**, 58, p. 17 ; Uetrecht J., Idiosyncratic drug reaction: current understanding, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **2007**, 47, p. 513.
- [24] Russmann S., Jetter A., Kullak-Ublick G.A., Pharmacogenetics of drug-induced liver injury, *Hepatology*, **2010**, 52, p. 748.
- [25] Temple R., Quantitative decision analysis: a work in progress, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **2007**, 82, p. 127 ; Chuang-Stein C., Entsuah R., Pritchett Y., Measures for conducting comparative benefit: risk assessment, *Drug Inform. J.*, **2008**, 42, p. 223.
- [26] Schnitzer T.J., Burmester G.R., Mysler E., Hochberg M.C., Doherty M., Ehrsam E. et al., Comparison of lumiracoxib with naproxen and ibuprofen in the Therapeutic Arthritis Research and Gastrointestinal Event Trial (TARGET), reduction in ulcer complications: randomised controlled trial, *Lancet*, **2004**, 364, p. 665.
- [27] Eichler H.G., Abadie E., Raine J.M., Salmonson T., Safe drugs and the cost of good intentions, *N. Engl. J. Med.*, **2009**, 360, p. 1378.



François Ballet

est le président du Comité R & D de Mediceen Paris Région* (le pôle de compétitivité mondial des technologies innovantes pour la santé et les nouvelles thérapies).

* Mediceen Paris Région, 6 rue Alexandre Cabanel, F-75015 Paris.

Courriel : fballet@medicen.org

Connaissez-vous bien le site de l'AC ?

www.lactualitechimique.org

Alors vite, à votre souris !

Les faibles doses

France Wallet

Résumé La notion de faibles doses est une notion relative, évolutive et non encore consensuelle. Elle est implicitement reliée à des effets faibles et sous-tendue par des concepts, comme les relations dose-réponse linéaires ou les notions de seuil, qui font actuellement débat dans la communauté scientifique. Cet article passe en revue les différents défis que doit relever la toxicologie, les nouvelles stratégies de recherche, ainsi que les questions qui restent encore en suspens.

Mots-clés Toxicologie, relation dose-réponse, effets des faibles doses, évaluation des risques, seuil de dose.

Abstract **Low doses in toxicology**
The notion of low doses is a relative term, evolutionary, not yet consensus. It is implicitly connected to weak effects and supported by concepts such as linear dose-response relationships or notions of threshold, currently debated in the scientific community. This article reviews the various challenges facing toxicology, new research strategies and questions that still remain on hold.

Keywords Toxicology, dose-response relationship, low dose effects, risk assessment, dose threshold.



Portrait présumé du médecin Paracelse (1493-1541).
Copie anonyme du XVII^e siècle, d'après un original perdu de Quentin Metsys. Huile sur bois, musée du Louvre, Paris.

Une notion relative

La notion de (faible) dose en toxicologie se retrouve déjà chez Paracelse, alchimiste, astrologue et médecin suisse du XVI^e siècle, considéré comme le père de la toxicologie, avec

la célèbre phrase : « *Toutes les choses sont poison, et rien n'est sans poison ; seule la dose fait qu'une chose n'est pas un poison* »⁽¹⁾. Aujourd'hui, le terme « toxique » a remplacé le terme « poison » de l'époque.

Le concept actuel de faible dose prend sa source dans le domaine du nucléaire, dans la période après-guerre, avec le suivi des victimes des bombardements de Hiroshima et Nagasaki. Mais peut-on, actuellement, définir une faible dose ?

La définition actuelle semble être « *la dose en dessous de laquelle les effets ne sont pas observables*. » Cette définition « négative » montre que la faible dose n'est pas une notion absolue. Elle dépend du toxique étudié, de la combinaison cible/agent toxique et des moyens d'observation. De plus, cette notion de dose n'est pas uniforme et peut revêtir plusieurs unités : énergie, débit, quantité, concentration... auxquelles s'ajoute une dimension temporelle (exposition accidentelle, chronique ou vie entière, fenêtre d'exposition), mais également spatiale (dose externe, dose interne ou absorbée).

Cette définition est loin d'être consensuelle, notamment entre les toxicologues et les épidémiologistes, comme le montre une analyse sociologique réalisée par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) et l'École des hautes études en sciences sociales [1], avec pour certains une confusion entre faibles doses et faibles risques.

L'absence d'effets observables va dépendre des moyens utilisés pour l'observation : observation en milieu naturel, observations cliniques, épidémiologie, expérimentation sur modèles animaux, expérimentations cellulaires et infra-cellulaires. Chacun de ces outils a ses limites, comme par exemple la significativité statistique pour l'épidémiologie qui demande une large population pour détecter un effet, ou la signification de l'effet pour la toxicologie. La notion temporelle est de plus cruciale à prendre en compte avec le temps de latence d'apparition des effets pathologiques, notamment dans le cas des effets cancérogènes.

Par ailleurs, cette notion de faible dose évolue en même temps que les progrès dans le domaine de la métrologie. Les

méthodes d'analyse ont gagné plusieurs ordres de grandeur durant les vingt-cinq dernières années. Ces progrès dans la précision s'accompagnent également d'un élargissement du spectre des molécules à détecter. La finesse de la détection pose le problème de l'importance relative de l'effet mesuré sur l'organisme, de son retentissement sur la personne et de l'acceptabilité sociale d'une exposition à faibles doses. Ceci renvoie à une demande sociale toujours plus forte de risque zéro.

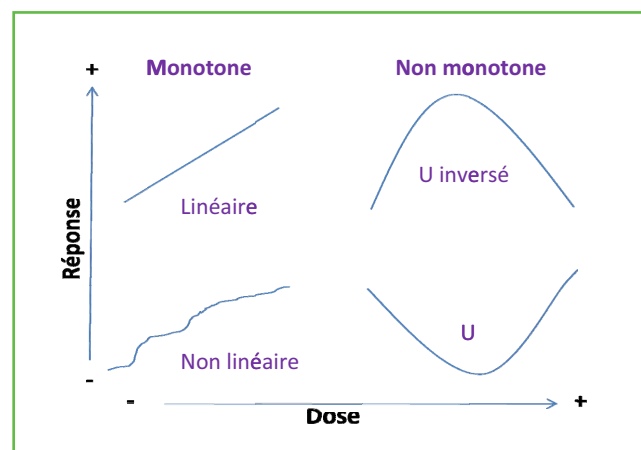
Des concepts qui font débat

La notion de faibles doses est implicitement associée d'une part à des relations linéaires entre la dose et l'effet, et d'autre part à l'existence d'un seuil en dessous duquel il n'y a pas d'effet. Ces concepts de relation linéaire avec seuil pour certains toxiques, sans seuil pour d'autres, notamment pour les effets cancérogènes, sont utilisés depuis des années en toxicologie, sans preuve, et font actuellement l'objet de nombreux débats scientifiques. La notion de seuil est remise en cause pour certains toxiques pour des effets non cancérogènes. L'exemple type en est le plomb, pour lequel les dernières études font apparaître une relation linéaire sans seuil entre les plombémies (mesures du taux de plomb présent dans le sang) et une altération du développement intellectuel de l'enfant [2].

Des défis pour la toxicologie

La recherche en toxicologie, dont le but est de déduire les risques à faibles doses, a de nombreux défis à relever, notamment sur le plan méthodologique. Les trois principaux processus d'inférence utilisés actuellement doivent être maîtrisés : l'extrapolation, la transposition et l'analogie.

L'extrapolation se fait actuellement de l'observé (hautes doses) vers le non-observé (basses doses) via une relation le plus souvent linéaire. Cette extrapolation est une opération mathématique comportant de nombreuses incertitudes, liées notamment aux différents types de bruit de fond et à la variabilité biologique. Les perturbateurs endocriniens et les nanotechnologies remettent en cause ce concept de relation linéaire. On voit alors apparaître d'autres types de courbe appelées courbes non monotones comme les courbes en U (phénomène d'hormesis⁽²⁾) (voir figure) [3]. Les processus de métabolisation restent-ils identiques à faibles doses ? L'approche des mécanismes d'action des molécules permet de consolider ces extrapolations.



Différents types de courbes dose-réponse.

La transposition permet de passer des populations, espèces ou voies d'exposition sur lesquelles on dispose d'observations, à la population cible ou la voie d'exposition concernée. La transposition animal-homme implique des mécanismes toxicocinétiques identiques entre les deux espèces. Ce qui est vrai pour certaines espèces ne l'est pas pour d'autres et les études sur les rats ne sont pas toujours totalement transposables chez l'homme. Les résultats obtenus chez l'adulte ne pourront pas toujours être transposables chez l'enfant du fait de mécanismes de métabolisation différents ou immatures. De même, les transpositions entre une population de travailleurs et la population générale, ou entre la population générale et une population sensible, peuvent être difficiles. Que dire alors de la transposition des résultats obtenus chez l'animal à des populations sensibles porteuses de pathologies particulières ? La réponse actuelle repose sur la prise en compte de facteurs d'incertitude, fixés aléatoirement.

L'analogie est utilisée pour déterminer les effets à faible dose. Il s'agit de partir d'une substance dont les effets sont connus et de les attribuer aux substances à conformation ou mécanisme d'action identique. Le but est de limiter le nombre de tests à effectuer, notamment sur les animaux.

Vers le développement de nouvelles stratégies

Les efforts de recherche actuels sont tournés vers la toxicologie prédictive. Il s'agit de prédire à moindre coût, rapidement et précisément, la toxicité humaine. L'expérimentation animale est chère, lente, donc réservée aux cas difficiles. L'utilisation des données épidémiologiques ou expérimentales se couple à la modélisation, qu'elle soit empirique ou mécaniste. C'est le développement des modèles dits PBPK (« physiologically based pharmacokinetics models »), des méthodes des équivalents – QSAR ou QSPR (« quantitative structure activity/property relationship »), voir encadré –, utilisant les analogies d'activité (biologie, toxicologie, écotoxicologie) ou de propriétés physico-chimiques, ou encore des facteurs d'équivalence toxique – FET ou TEQ (« toxic equivalent quantity »). Les modèles utilisés sont actuellement spécifiques des différentes échelles – organisme, organe, cellule –, les approches moléculaires ayant rajouté une échelle supplémentaire.

On cherche à quantifier tous les effets toxiques possibles pour différents types d'exposition avec des études de toxicité aiguë (exposition unique à caractère généralement accidentel à une forte dose avec effet dans les 14 jours), subaiguë/subchronique (expositions répétées de moins de 90 jours) ou chronique (plusieurs expositions sur le long

Les modèles QSAR/QSPR

Ces modèles sont utilisés pour prédire l'activité toxicologique et/ou les propriétés physico-chimiques d'une substance à partir des données de structure moléculaire. L'hypothèse de base est qu'une structure moléculaire similaire entraîne une même activité ou propriété chimique. De nombreux outils existent pour la mise en place de ces modèles (régressions, réseaux de neurones, algorithmes génétiques). Les études actuelles font de plus en plus intervenir les modèles tridimensionnels.

Pour en savoir plus : Mombelli E., Ringissen S., The computational prediction of toxicological effects in regulatory contexts. Current use and future potential of (Q)SAR tools, *L'Act. Chim.*, 2009, 335, p. 52.

terme). De nombreux tests sont effectués, mais l'intégration de tous les résultats est difficile et la transposition à l'homme également. Une stratégie intelligente de tests n'est actuellement pas disponible et tout reste à faire. Par ailleurs, la toxicité d'une substance peut être modifiée par l'exposition au préalable, simultanée ou consécutive à une, et *a fortiori* plusieurs autres substances, avec de potentiels effets additifs, potentialisateurs ou antagonistes.

Pour la mesure des effets, on a vu petit à petit se développer les biomarqueurs, définis par l'OMS comme « *toutes mesures reflétant une interaction entre un système biologique et un agent toxique de nature chimique, physique ou biologique.* » On distingue les marqueurs de susceptibilité, les marqueurs d'exposition et les marqueurs d'effets.

Des questions qu'il reste à résoudre

Mais lorsque l'on constate des réponses biologiques à faible dose, cela ne signifie pas forcément que l'on est sur le chemin d'une pathologie. Certains effets biologiques sont sans effets sanitaires clairs : on parle d'effets adaptatifs (inflammation transitoire, premiers effets biologiques). À partir de quand l'effet est-il dommageable ? Cela pose, au niveau toxicologique, la question de la différence entre le normal et le pathologique [4].

Ces développements visent à mieux appréhender les risques toxicologiques et à établir des valeurs toxicologiques de référence utilisées dans les évaluations quantitatives de risques sanitaires ou pour l'élaboration de valeurs guides ou de valeurs de gestion. Le règlement européen REACH est un moteur exceptionnel pour la recherche en toxicologie. Par ailleurs, les nouveaux concepts qui se développent en toxicologie remettent en cause la démarche traditionnelle d'évaluation qualitative ou quantitative du risque sanitaire.

Au-delà des thèmes déjà développés, la thématique des faibles doses pose un certain nombre de questions qui ne sont pas encore bien prises en compte dans l'évaluation des risques :

- les relations gènes-environnement, le rôle de l'épigénétique ou des effets transgénérationnels ;
- la caractérisation des susceptibilités individuelles, ainsi que le rôle d'autres facteurs tels que les facteurs sociaux et de stress [5] ;
- la relation entre preuve toxicologique et preuve épidémiologique et l'analyse de la causalité [6] ;
- la question de l'exposition : durée d'exposition, fenêtre d'exposition... avec l'apparition de la notion d'exposome [7], qui est la mesure de toutes les expositions d'un individu durant sa vie et comment ces expositions sont liées à la santé. L'exposition d'un individu commence avant sa naissance et prend en compte les expositions environnementales et liées au travail ;
- les mélanges de substances et la question lancinante des effets des cocktails chimiques ;
- les problèmes de détection de l'effet ou de la dose toxique, notamment par rapport à un bruit de fond pas très bien défini [8] ;
- les possibles phénomènes d'interaction de l'hôte avec la substance : modification chimique par la flore intestinale, phénomènes de réparation...

La question centrale est celle de l'acceptabilité sociale, cette dernière poussant le décideur à prendre des actions de gestion comme l'interdiction de substances sans forcément faire l'analyse des risques liés aux possibles produits de substitution. Acceptabilité sociale et recherche sont aussi un élément fondamental, la caution scientifique étant remise en cause par la société civile, notamment pour les travaux d'expertise scientifique.

La notion de faible dose n'a pas fini d'évoluer. La recherche dans le domaine est très active, malgré un manque de ressources aussi bien financières qu'humaines. Les conséquences en termes d'évaluation et de gestion du risque peuvent être considérables.

Notes

- (1) « *Alle Ding sind Gift, und nichts ohn Gift; allein die Dosis macht, das ein Ding kein Gift ist.* »
- (2) *Phénomène d'hormesis* : dose réponse théorique montrant un possible effet bénéfique à faible dose et un effet néfaste à dose plus élevée. Ce phénomène serait lié à la stimulation des défenses biologiques de l'organisme.

Références

- [1] Chateauraynaud F., Debaz J., Fintz M., *La dose fait-elle toujours le poison ? Une analyse sociologique des mondes de la recherche et de l'expertise à l'épreuve des faibles doses*, Édition scientifiques Anses, EHESS, 2011.
- [2] Lanphear B.P., Hornung R., Khoury J., Yolton K., Baghurst P., Bellinger D.C., Canfield R.L., Dietrich K.N., Bornschein R., Greene T., Rothenberg S.J., Needleman H.L., Schnaas L., Wasserman G., Graziano J., Roberts R., Low-level environmental lead exposure and children's intellectual function: An international pooled analysis, *Environ. Health Perspect.*, 2005, 113(7), p. 894.
- [3] Calabrese E.J., Baldwin L.A., Toxicology rethinks its central belief. Hormesis demands a reappraisal of the way risks are assessed, *Nature*, 2003, 421, p. 691.
- [4] Canguilhem G., *Le normal et le pathologique*, PUF, 2005.
- [5] Cloughert J.E., Kubzansky L.D., A framework for examining social stress and susceptibility to air pollution in respiratory health, *Environ. Health Perspect.*, 2009, 117(9), p. 1351.
- [6] Ward A.E., The role of causal criteria in causal inferences: Bradford Hill's "aspects of association", *Epidemiologic Perspectives & Innovations*, 2009, 6, p. 2.
- [7] Wild C.P., Complementing the genome with an "exposome": The outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2005, 14(8), p. 1847.
- [8] Ronga-Pezzeret S., Payre C., Mandin C., Bonvallot N., Fiori M., Lambrozo J., Glorennec P., Prise en compte du bruit de fond chimique environnemental dans les évaluations réglementaires françaises des risques sanitaires, *Environnement, Risques & Santé*, 2010, 9(6), p. 517.



France Wallet

est médecin et biomathématicienne. Elle exerce ses fonctions dans le domaine microbiologique au sein du Service des études médicales d'EDF*, chargé de l'évaluation des risques sanitaires environnementaux.

* EDF, D : France.wallet@edf.fr

Nanoparticules et risque humain

Marie Carrière

Résumé

Les nanoparticules sont utilisées dans de nombreux produits de consommation courante. Elles suscitent l'espoir de thérapeutiques nouvelles, de technologies plus productives et moins polluantes, mais également le doute car leurs effets sur la santé et l'environnement sont peu connus. Nous sommes tous potentiellement exposés à ces substances nouvelles, aux propriétés particulières, même si aujourd'hui peu de technologies permettent de caractériser et quantifier cette exposition. Les organes cibles potentiellement atteints par les nanoparticules sont la peau, le poumon et le tractus gastro-intestinal. Ces organes sont directement exposés en cas de contamination accidentelle des travailleurs dans les usines de production ou en cas d'utilisation de produits contenant des nanoparticules par les populations. Des études démontrent également que les nanoparticules peuvent traverser ces barrières naturelles, atteindre la circulation sanguine et se déposer dans les organes internes : foie, reins, rate, cerveau. La biodistribution et les effets des nanoparticules sur ces organes dépendent à la fois de leur composition, leur taille, leur forme, leur pureté, mais également de leur stabilité, c'est-à-dire de leur capacité à se dissoudre ou à s'agglomérer. Si les connaissances relatives à leurs effets toxiques sont encore parcellaires, la volonté de développer des nanoparticules par éco-conception – selon des critères les rendant plus sûres pour les utilisateurs et les manipulateurs, tout en préservant les propriétés qui les rendent si prometteuses – est aujourd'hui dans l'air du temps.

Mots-clés

Nanoparticules, toxicité, biodistribution, sécurité, impact.

Abstract

Nanoparticles and human risks

Nanoparticles are used in a number of commercial goods. They are a source of hope for new therapeutics, new energy production tools with higher efficiency and lower environmental impact. They are also a source of concern since their health and environmental impact are today poorly known. We are all potentially exposed to these new substances, even if it is still difficult to characterize and quantify this exposure. Target organs are the skin, the lungs, and the gastro-intestinal tract. These organs may be directly exposed when products containing nanoparticles are used. Recent studies prove that some nanoparticles are also able to pass through these physiological barriers, reach the bloodstream and deposit in internal organs such as the liver, kidneys and brain. Their impact depends on their chemical composition, size, shape, purity, as well as on their stability, i.e. their dissolution and/or agglomeration potential. Knowledge concerning their toxic effects is still fragmentary, but the current trend is to develop safe-by-design nanoparticles, following criteria that would preserve their interesting properties while ensuring that they would be safer for the environment and the populations.

Keywords

Nanoparticles, toxicity, biodistribution, safety, impact.

Des nanoparticules partout

« *Aujourd'hui, les nanoparticules sont partout* » peut-on lire sur de multiples sites Internet et forums, dans des revues spécialisées ou de vulgarisation. Qu'on les nomme substances à l'état nanoparticulaire comme le législateur, nanoobjets, nanoparticules ou nanomatériaux, elles entrent aujourd'hui dans la composition de nombreux produits de grande consommation, comme le montre l'inventaire dressé par le Woodrow Wilson Institute [1]. Elles sont partout parce que la nature elle-même en produit : feux de forêts, éruptions volcaniques, métabolisme des organismes vivants. Beaucoup de molécules chimiques en génèrent également ; n'étant pas stables dans les milieux naturels, elles s'agrègent parfois sous forme de précipités de tailles nanoparticulaires : ce sont des nanoparticules. Partout également parce que les activités humaines en produisent indirectement : fumées de soudage, moteurs à combustion...

Mais aujourd'hui, une classe de nanoparticules est la source de nombreuses interrogations : les nanoparticules manufacturées (« *engineered nanoparticles* »). Produites intentionnellement par l'homme pour des applications

industrielles ou médicales, elles amènent un bénéfice certain, mais créent également le doute car ce sont des substances nouvelles, aux effets peu connus et tellement petites qu'on ne peut les voir à l'œil nu ou sous un simple microscope optique. Ces nanoparticules apportent néanmoins l'espoir de thérapeutiques nouvelles, de systèmes énergétiques moins polluants et plus productifs. Elles donnent naissance à des technologies nouvelles, qui facilitent la communication entre les personnes et améliorent notre confort : ordinateurs plus compacts, électronique embarquée dans les voitures, téléphones portables et tablettes.

Définition

La Commission européenne a adopté le 18 octobre 2011 une définition des substances à l'état nanoparticulaire, émanant des travaux du SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks) et du JRC (Joint Research Center, Commission européenne). Cette définition, largement commentée sur les forums, est disponible sur le site de la Commission [2].



Les nanoparticules ont donné naissance à des technologies nouvelles qui facilitent la communication entre les personnes et améliorent notre confort : ordinateurs plus compacts, téléphone portables, tablettes...

Ainsi une substance à l'état nanoparticulaire est une substance naturelle, formée accidentellement ou manufacturée (voir encadré) ; contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat ; dont au moins 50 % (en nombre) des particules présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 et 100 nm. Certains trouvent cette définition maladroite, trop vague ou trop technique ; elle reflète toutes les contraintes auxquelles la Commission a été soumise, et le texte rend compte des difficultés auxquelles le groupe de travail s'est heurté.

Quelques définitions

Nanoparticule naturelle : nanoparticule produite par la nature, par exemple émise lors de feux de forêt, d'éruptions volcaniques...

Nanoparticule non intentionnelle : nanoparticule émise du fait de l'activité humaine, non intentionnellement, par exemple par les fumées de moteurs.

Nanoparticule manufacturée : nanoparticule produite intentionnellement par l'homme, pour une application découlant de ses propriétés particulières.

Quelles études sur les effets sur la santé ?

Aujourd'hui, de nombreux rapports sur les effets des nanoparticules sur la santé, sur les pratiques de laboratoire visant à manipuler ces substances dans des conditions optimales de sécurité ont été publiés. On peut notamment citer les rapports de l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), publiés par l'AFSSET (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail) avant la fusion avec l'AFSSA

(Agence française de sécurité sanitaire de l'alimentation) [3-4] et ceux de l'INRS (Institut national de recherche et de sécurité) [5]. Notons également les travaux de l'OCDE (Organisation de coopération et de développement économique), qui a mis en place en 2006 le Groupe de travail sur les nanomatériaux manufacturés (GTNM), visant à promouvoir la coopération internationale en matière de sécurité sanitaire et environnementale des nanomatériaux. Les travaux de ce groupe s'appuient sur les résultats des principaux acteurs internationaux de la recherche dans le domaine et recueillent des données de toxicologie relatives aux nanoparticules qui sont actuellement les plus produites dans le monde : TiO_2 , SiO_2 , Ag, nanotubes de carbone... (figure 1).

Mais que sait-on aujourd'hui des effets des nanoparticules sur la santé ?

Qui est concerné, quelles sont les voies d'exposition, quels sont les organes cibles ?

Les nanoparticules sont partout, mais qui est réellement exposé ?

Les nanoparticules étant partout, nous sommes tous plus ou moins concernés, mais deux points viennent toutefois moduler ce propos. Le risque étant communément admis comme étant la combinaison de l'exposition et du danger inhérent à la nanoparticule, alors il n'y a pas de risque s'il n'y a pas d'exposition, et il n'y a pas de risque non plus s'il y a exposition à des nanoparticules qui ne sont pas dangereuses. Si les études sur le danger des nanoparticules

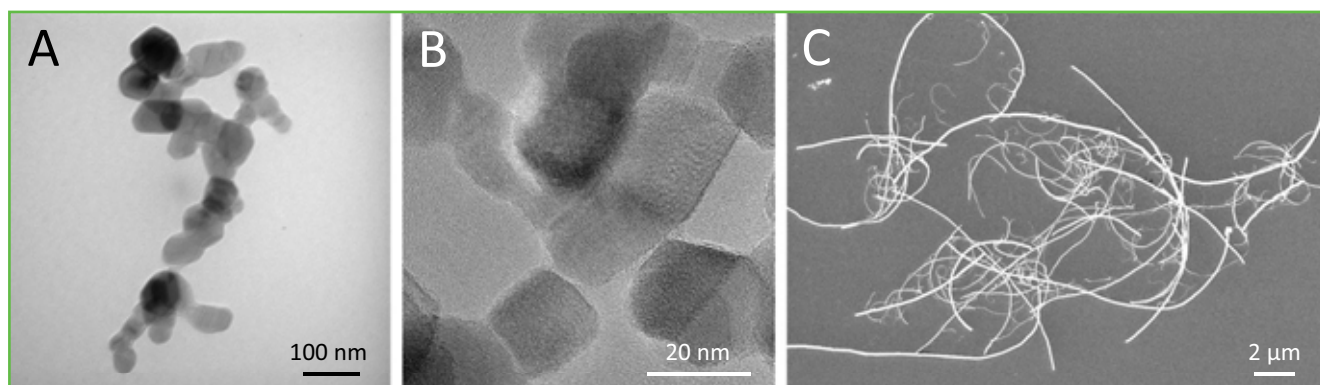


Figure 1 - Nanoparticules de TiO_2 (A, B) et nanotubes de carbone (C), observées en microscopie électronique par transmission (A, C) et en microscopie électronique à transmission haute résolution (B).



Figure 2 - Feuillelet nano-sécurité publié lors du projet européen NanoSAFE (disponible sur www.nanosafe.org).

abondent, les données d'exposition sont encore peu précises et résultent souvent de modélisations mathématiques, qui sont basées sur des scénarios probables et nécessitent des approximations. Aujourd'hui, les études visant à évaluer l'exposition des travailleurs et des populations aux nanoparticules se multiplient ; elles rendront dans un futur proche des réponses concrètes sur lesquelles les spécialistes de l'analyse du risque pourront se baser.

Ensuite des mesures de prévention efficaces existent et les personnes, notamment dans les laboratoires de recherche et dans l'industrie, peuvent se protéger et limiter au maximum l'exposition aux nanoparticules. Les projets NanoSAFE et NanoSAFE2, financés par la Commission européenne, ont abouti à la publication de livrets [6] (figure 2), dans lesquels est analysée l'efficacité des équipements de protection individuelle et collective contre l'exposition aux nanoparticules. Ils ont également abouti à la mise en place d'un site web destiné à informer le public et les travailleurs des aspects de sécurité liés à la production et l'utilisation des nanoparticules [7].

Quant à l'exposition des populations aux nanoparticules manufacturées, elle est difficilement différenciable de l'exposition aux nanoparticules générées non intentionnellement, par exemple par les moteurs à combustion. Le recul qu'a la communauté scientifique sur la connaissance des effets des nanoparticules non intentionnelles permet d'anticiper les effets que pourraient avoir les nanoparticules manufacturées. On sait notamment que les particules non intentionnelles provoquent une inflammation pulmonaire, des troubles du système cardiovasculaire, et également des effets immunoallergiques (effets adjuvants). Les études visant à établir les effets possibles des nanoparticules manufacturées se sont naturellement penchées sur les modèles pulmonaires et cardiovasculaires ; des résultats montrent aujourd'hui que les nanoparticules manufacturées provoquent effectivement une inflammation des voies aériennes. Les effets cardiovasculaires ne sont quant à eux pas démontrés. Des études récentes tendent à montrer que l'effet adjuvant des nanoparticules non intentionnelles est

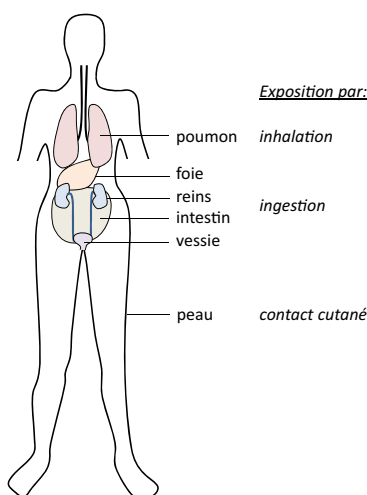
également observé lors de l'exposition à des nanoparticules manufacturées.

Trois principales voies d'exposition : pulmonaire, gastro-intestinale et cutanée

Trois principales voies d'exposition aux nanoparticules ont été identifiées : la voie pulmonaire (exposition par inhalation, par exemple exposition du travailleur à son poste de travail dans les usines de fabrication ou utilisation des nanoparticules), la voie gastro-intestinale (exposition par ingestion, par exemple consommation de produits alimentaires contenant des nanoparticules ou ayant été en contact avec des emballages alimentaires contenant des nanoparticules si ceux-ci ne sont pas stables) et la voie cutanée (exposition de la peau, par exemple application de produits cosmétiques contenant des nanoparticules) (voir encadré).

À ces trois voies s'ajoutent la voie systémique, mais qui n'est pertinente que dans le cas d'exposition intentionnelle de patients à des nanoparticules en vue d'une thérapie ou d'un diagnostic. Nous ne nous y intéresserons pas car la problématique de l'utilisation de nanoparticules en médecine est hors propos.

Trois voies d'exposition aux nanoparticules



La voie pulmonaire, qui concerne notamment le travailleur dans les usines de production de nanoparticules pouvant être exposé au poste de fabrication, au moment du dépotage, lors des phases de nettoyage des réacteurs de synthèse, lors de l'emballage des nanopoudres...

La voie gastro-intestinale, notamment lors de la consommation de produits alimentaires contenant des nanoparticules, qui sont utilisées comme additifs alimentaires ou incluses dans les emballages alimentaires et potentiellement libérées dans l'aliment (voir [4, 15]).

La voie cutanée, notamment lors de l'application de produits cosmétiques contenant des nanoparticules.

Translocation : passage à travers les barrières physiologiques (peau, épithélium pulmonaire ou barrière alvéolo-capillaire, barrière gastro-intestinale, barrière hémato-encéphalique...).

En cas d'exposition, les nanoparticules peuvent exercer leurs effets sur l'organe directement exposé (poumon, tractus gastro-intestinal, peau) ou sur des organes dits secondaires, qui sont exposés si les nanoparticules traversent les barrières naturelles et sont redistribuées dans l'ensemble du corps *via* la circulation sanguine. On parle alors de translocation (voir encadré).

La voie cutanée

Dans le cas d'une exposition de la peau, plusieurs revues scientifiques s'accordent pour conclure que les nanoparticules ne traversent pas une peau non lésée au-delà des couches les plus supérieures de l'épiderme. Si des effets allergisants ou inflammatoires ont été pointés dans le passé, les études les plus récentes tendent à montrer que ces effets ne sont pas significatifs. L'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), anciennement

AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé), a toutefois émis une recommandation le 15 mars 2011 (disponible sur leur site [8]), qui stipule que par mesure de précaution et en l'absence de données précises sur leurs effets, l'emploi de produits contenant des particules de taille nanométrique sur des peaux lésées, que ce soit par blessure ou par érythème solaire, est à proscrire (sont notamment concernées par cette recommandation les crèmes solaires).

La voie gastro-intestinale

Il n'existe que très peu de données dans la littérature scientifique issues d'études – menées dans des conditions réalistes d'exposition – concernant l'exposition par ingestion. Quelques études s'attachent à évaluer les effets et la translocation de nanoparticules lors d'une exposition aiguë, c'est-à-dire une exposition à de fortes doses et pendant des temps courts. Or si nous sommes exposés à des nanoparticules par ingestion, c'est plutôt en mode chronique, c'est-à-dire à de faibles doses et pendant des temps très longs. Les études dont les résultats ont été publiés jusqu'à présent sont donc informatives mais doivent être complétées par des études menées selon des scénarios d'exposition plus réalistes. Par ailleurs, les études menées lors d'expositions aiguës ne montrent que peu de translocation des nanoparticules à travers la barrière gastro-intestinale.

La voie pulmonaire

Le volume de données traitant des effets et de la translocation des nanoparticules lors d'exposition pulmonaire est beaucoup plus important. Tout d'abord plusieurs études montrent que les nanoparticules peuvent traverser la barrière pulmonaire. Ces études, menées il y a maintenant une dizaine d'années à l'aide de traceurs radioactifs nanoparticulaires, ont permis d'identifier des organes secondaires potentiels, le foie et la rate, dans lesquels les nanoparticules s'accumulent lorsqu'elles sont transférées au réseau sanguin et prises en charge par le système réticuloendothélial. Les reins sont également des organes cibles secondaires, et ils sont atteints par les nanoparticules les plus fines, les plus furtives, qui ne sont pas vues par le système réticuloendothélial [9]. Les nanoparticules auraient également la capacité de passer la barrière placentaire. On note ici l'influence des caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules, qui régissent non seulement leurs effets, mais également leur

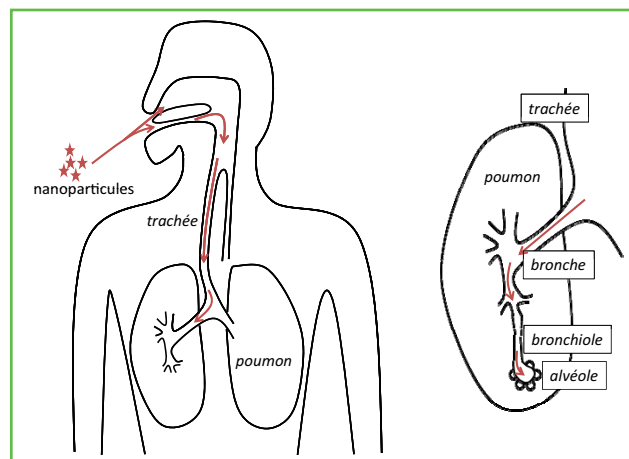


Figure 3 - Trajet des nanoparticules dans les voies respiratoires lors d'une exposition par inhalation.

devenir dans l'organisme. Le transfert de nanoparticules vers le cerveau a également été identifié il y a une dizaine d'années, lors d'expositions par inhalation. En effet, dans les voies aériennes supérieures débouchent les nerfs olfactifs qui relient directement, c'est-à-dire sans passage par la barrière hématoencéphalique, le nez au cerveau. Les nanoparticules auraient la capacité de transiter le long de ces nerfs pour atteindre le cerveau.

Lors d'une exposition par inhalation (figure 3), le dépôt des nanoparticules au sein des voies respiratoires n'est pas uniforme et dépend de leur diamètre. Un diagramme de dépôt théorique des nanoparticules, construit grâce au modèle de la Commission internationale de protection radiologique (CIPR), est proposé dans le rapport de l'INRS [5]. Il montre que les nanoparticules ayant un diamètre compris entre 10 et 100 nm se déposent majoritairement dans les alvéoles, et que les plus fines, de diamètre inférieur à 5 nm se déposent plutôt dans les zones extra-thoraciques de l'arbre respiratoire (fosses nasales, bouche, larynx...).

En fonction de leur diamètre, les nanoparticules sont donc susceptibles d'entraver le bon fonctionnement de différentes fonctions du poumon : respiration, clairance pulmonaire, production de mucus... La plupart des études traitant de l'effet des nanoparticules sur le poumon découlent de protocoles expérimentaux consistant à exposer des animaux de laboratoire à des nanoparticules par instillation intranasale ou intratrachéale. De rares études traitent de leur effet lors d'exposition par inhalation, car peu de laboratoires disposent aujourd'hui de l'équipement permettant de générer un aérosol de nanoparticules et d'y exposer des animaux. Les résultats de ces études montrent que les nanoparticules induisent une réponse inflammatoire des poumons, détectée par l'accumulation de cytokines pro-inflammatoires dans le liquide bronchoalvéolaire et dans le tissu pulmonaire lui-même. Cette réponse se caractérise également par le recrutement de neutrophiles dans le liquide bronchoalvéolaire. C'est le cas par exemple lors de l'exposition d'animaux de laboratoire à des nanotubes de carbone [10]. Cette réponse inflammatoire de phase aiguë est souvent accompagnée par la formation de granulomes multifocaux, qui sont des amas de cellules inflammatoires contenant des agglomérats de nanotubes de carbone. Ces granulomes sont encore observables six mois après l'exposition initiale. L'apparition d'une fibrose pulmonaire a également été observée



© Fotolia.com/Adam Gregor.

Quel risque pour les travailleurs directement exposés aux nanoparticules ?

quelques semaines après l'exposition pulmonaire à des nanotubes de carbone, et elle persiste après six mois. Finalement, cette réponse pulmonaire est typique de celle observée lors d'une exposition à un corps étranger. Ce type de réponse est également observé lors d'exposition pulmonaire à des nanoparticules de TiO_2 [11]. Ces études ont été menées sur des animaux exposés à des doses massives de nanoparticules, qui ne reflètent pas les conditions d'exposition des populations ou du travailleur à son poste de travail. Elles étaient indispensables et permettent de connaître la réponse des organismes vivants dans le pire des scénarios, mais doivent à présent être complétées par des expérimentations dans des conditions plus réalistes.

À l'échelle cellulaire, quels sont les effets potentiels des nanoparticules ?

Les nanoparticules s'accumulent-elles dans les cellules ? Comment et pour quelle durée ?

L'accumulation des nanoparticules dans les cellules a été démontrée, que ce soit dans des cellules eucaryotes ne présentant pas de paroi, dans les cellules eucaryotes présentant une paroi (comme les cellules végétales) ou dans les cellules procaryotes qui présentent elles aussi une paroi.

Dans le cas des cellules constituant les organes humains et animaux, les nanoparticules sont principalement internalisées par endocytose, même si quelques études montrent que les nanoparticules les plus fines pourraient diffuser à travers la membrane plasmique ou emprunter des transporteurs normalement destinés à l'internalisation de molécules biologiques. Selon leur taille et leur état d'agglomération, les nanoparticules empruntent alors des voies d'endocytose différentes : phagocytose (absorption de particules de grande taille dans les cellules phagocytaires uniquement) ou pinocytose (endocytose en phase fluide), cette dernière se déclinant en macropinocytose (vésicules $> 1 \mu\text{m}$), endocytose médiée par la clathrine (vésicules $\sim 120 \text{ nm}$), endocytose dépendante des caveolae (vésicules $\sim 60 \text{ nm}$) et endocytose indépendante de la clathrine et des caveolae (vésicules $\sim 90 \text{ nm}$). Leur devenir cellulaire est alors variable, même si la plupart des études publiées montrent que les nanoparticules se regroupent rapidement dans des vésicules intracellulaires de type vacuole ou lysosomes (figures 4 et 5).

L'accumulation nucléaire des nanoparticules est rare et se limite aux nanoparticules les plus fines (diamètre inférieur à 5 nm) et aux situations dans lesquelles l'accumulation nucléaire est recherchée. Dans ce cas, la nanoparticule est volontairement ciblée vers le noyau, par exemple au moyen d'un couplage en surface de séquences de localisation nucléaire. Ces situations s'adressent donc plutôt à l'utilisation de nanoparticules à visée thérapeutique. D'autres rares cas de transfert de nanoparticules de diamètre supérieur à 5 nm vers le noyau ont été mentionnés, mais il est très probable que les nanoparticules atteignent ce compartiment cellulaire lorsque la paroi nucléaire est rompue, en particulier lors de la mitose. L'accumulation de nanoparticules dans

les mitochondries n'est également que rarement rapportée dans la littérature.

Quant à la persistance des nanoparticules dans les cellules après leur accumulation, peu d'articles traitent de ce sujet. Néanmoins, il semblerait que les nanoparticules les plus inertes (inerte signifiant ici non soluble) persisteraient dans les cellules une fois qu'elles y sont accumulées.

Des effets communs à de nombreuses nanoparticules : stress oxydant, inflammation, mais également dommages à l'ADN

Lorsque les nanoparticules s'accumulent dans les cellules, ou simplement lorsqu'elles s'adsorbent sur la membrane plasmique, l'effet cellulaire le plus couramment rapporté est l'induction d'un stress oxydant. De quoi s'agit-il ? Le métabolisme cellulaire génère continuellement des espèces réactives telles que les espèces réactives de l'oxygène (ROS). La cellule possède un arsenal d'outils lui permettant de s'en défendre : antioxydants moléculaires tels que le glutathion, enzymes dites antioxydantes telles que la superoxyde dismutase ou la catalase, dont l'action est de

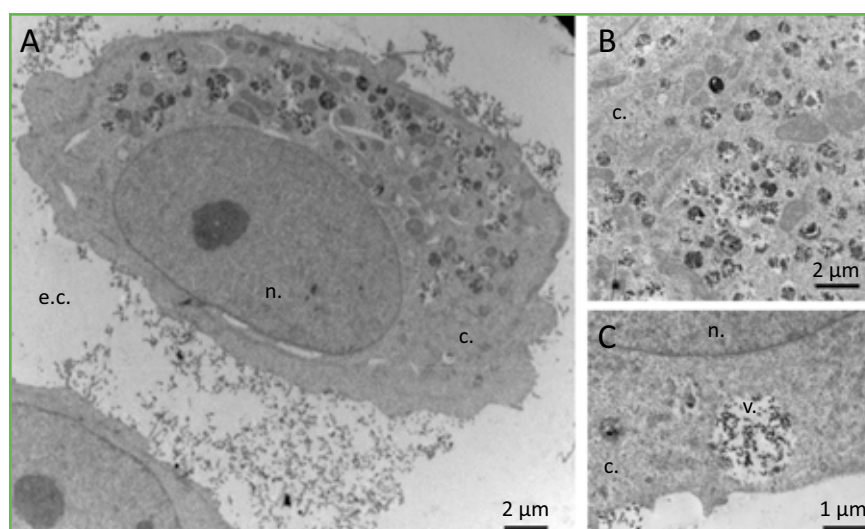


Figure 4 - Accumulation de nanoparticules de TiO_2 dans des cellules pulmonaires en culture. Les nanoparticules se logent dans le cytoplasme (A, B), dans des vésicules ou vacuoles (C).

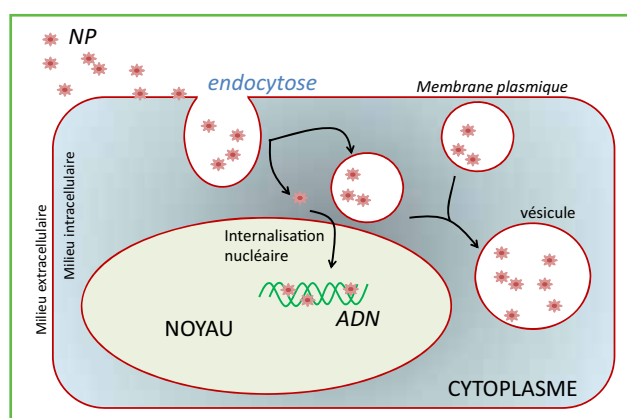


Figure 5 - Représentation schématisée de l'accumulation et de la répartition de nanoparticules dans des cellules.

Les nanoparticules sont internalisées dans les cellules principalement par endocytose. Elles s'accumulent dans des vésicules cytoplasmiques, les plus fines atteignent le noyau où elles peuvent directement interagir avec l'ADN.

transformer les espèces réactives en espèces inertes. On dit qu'une cellule subit un stress oxydant lorsque l'équilibre entre génération d'espèces réactives et élimination de celles-ci par les systèmes antioxydants est rompu (figure 6). La cellule accumule des espèces réactives qui peuvent alors altérer les lipides constituant la membrane plasmique ou les membranes des compartiments intracellulaires, oxyder les bases de l'ADN, inhiber des enzymes et autres biomolécules intracellulaires.

Les nanoparticules induisent un stress oxydant soit par action directe (par exemple par génération d'espèces réactives à leur surface du fait de leur séquestration dans des compartiments cellulaires acides tels que les lysosomes), soit par action indirecte (par exemple par adsorption de molécules antioxydantes à leur surface, inhibition de l'activité des enzymes régulant la balance redox cellulaire). En outre, certaines nanoparticules se dissolvent au contact du cytosol, libérant alors des ions métalliques pro-oxydants. Ces effets pro-oxydants des nanoparticules ont été rapportés lors d'exposition *in vitro* de cellules à des nano-oxydes de titane, de fer, des nanosilices, des quantum dots, des nanoparticules d'or et d'argent [12].

Le lien entre stress oxydant et inflammation est connu de longue date. Lors d'une exposition cellulaire à des nanoparticules, même si ce lien n'a pas été formellement démontré, la libération de médiateurs pro-inflammatoires a été largement documentée.

L'induction d'effets génotoxiques a été démontrée lors d'exposition à des nano-oxydes de titane, de fer, des nanosilices, des quantum dots, des nanoparticules d'or et d'argent [12]. Plusieurs études montrent que les nanoparticules les plus fines sont capables de migrer du cytoplasme jusqu'au noyau cellulaire certainement *via* les pores nucléaires. D'autre part, les espèces réactives qui s'accumulent dans les cellules du fait du déséquilibre de la balance redox peuvent migrer jusqu'au noyau. Au contact du nucléoplasme, les nanoparticules ou les espèces réactives interagissent alors avec l'ADN, ou avec les protéines qui maintiennent la structure de la chromatine, ou enfin avec les protéines impliquées dans la réparation de l'ADN. Finalement, les nanoparticules génèrent alors, directement ou indirectement, des dommages à l'ADN ou des perturbations de l'activité des systèmes de réparation [13].

Par leur action pro-oxydante, ou simplement du fait de leur présence dans le cytoplasme, les nanoparticules entraînent également des perturbations de la signalisation cellulaire et de l'expression des gènes, en bouleversant le fonctionnement de la machinerie cellulaire responsable de la transcription, de la traduction et des modifications post-traductionnelles des protéines.

D'autres effets plus ponctuels et réservés à certains types de nanoparticules et à certains types cellulaires

Outre ces effets communs à plusieurs classes de nanoparticules, du fait de leur forme ou de leur réactivité spécifique, certaines nanoparticules sont source d'autres types de dommages. On citera notamment certains effets propres aux nanotubes de carbone qui, de par leur grand facteur d'aspect (ratio longueur/diamètre), perturbent l'activité phagocytaire des macrophages. On parle alors de phagocytose incomplète ou « contrariée » : les macrophages, incapables de mener à bien la phagocytose de ces fibres, libèrent en continu des cytokines pro-inflammatoires qui sont source de dommages dans les tissus environnants. On citera également les effets toxiques des nanoparticules qui se dissolvent, en totalité ou en partie. Par exemple, il est connu que les nanoparticules d'argent, très utilisées pour leurs propriétés bactéricides, limitent le développement bactérien car elles libèrent des ions argent entraînant la mort ou limitant la reproduction des bactéries. D'autres nanoparticules sont susceptibles de se dissoudre ; elles entraînent alors des effets cellulaires qui combinent les effets des nanoparticules et ceux des ions qu'elles libèrent.

Les effets des nanoparticules diffèrent en fonction de leurs propriétés physico-chimiques : diamètre, couronne de molécules adsorbées, et hydrophobie et charge de surface

Comme mentionné précédemment, le devenir des nanoparticules dans l'organisme dépend de leur taille : lors d'une exposition par inhalation, les nanoparticules présentant un diamètre compris entre une dizaine et une centaine de nanomètres se déposeront préférentiellement dans les alvéoles pulmonaires. En fonction de leur diamètre, les nanoparticules d'or traverseront plus ou moins efficacement la barrière pulmonaire ou placentaire. Le diamètre des nanoparticules influence également leurs effets cellulaires : en fonction de ce diamètre, elles s'accumulent dans les cellules *via* différentes voies et sont alors dirigées vers différents compartiments intracellulaires, avec à la clé différents effets toxiques.

Un paramètre physico-chimique particulièrement important est la surface spécifique de la nanoparticule. Cette grandeur, reflétant la surface développée de la nanoparticule et dont l'unité est le m^2/g , est liée au diamètre de la nanoparticule, mais pas uniquement : une nanoparticule poreuse présentera une surface spécifique plus importante qu'une nanoparticule non poreuse de même diamètre. Plus une

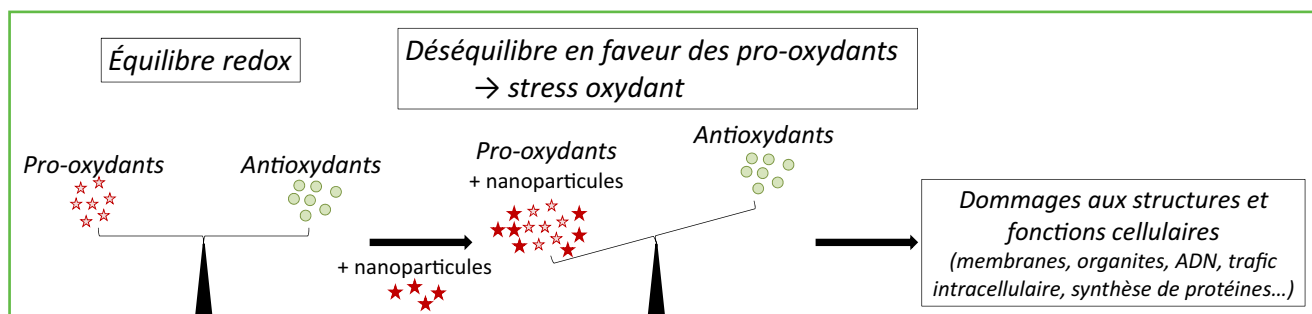


Figure 6 - Perturbation de la balance redox cellulaire par l'exposition à des nanoparticules.

nanoparticule est petite, plus sa surface spécifique est grande. Une grande surface spécifique signifie que la nanoparticule présente un grand nombre d'atomes réactifs à sa surface, qui sont susceptibles d'interagir avec les molécules du milieu (sang, cytosol...). D'autre part, différentes molécules peuvent se fixer sur cette surface, ce qui entraîne deux conséquences toxicologiques. Tout d'abord si les molécules qui se fixent à la surface de la nanoparticule sont des substances toxiques, alors la nanoparticule tiendra lieu de vecteur de ces toxiques dans l'organisme. Cette propriété peut être mise à profit en nanomédecine, puisqu'alors une substance médicamenteuse peut être volontairement liée à la surface d'une nanoparticule ; cette substance médicamenteuse pourra alors être vectorisée par la nanoparticule jusqu'à l'organe cible. Plus grande est la surface spécifique de la nanoparticule, plus grand est le nombre de molécules toxiques – ou de médicament – qui seront véhiculés. La seconde conséquence est que sur cette surface peuvent se fixer des molécules indispensables à la survie de la cellule ou d'un organisme. La nanoparticule devient un piège pour ces substances dont la cellule ou l'organisme sont alors privés. Plus la surface spécifique de la nanoparticule est grande, plus la nanoparticule piège ces molécules.

On comprend aisément qu'une nanoparticule sur laquelle est adsorbé un composé toxique sera plus toxique qu'une nanoparticule sur laquelle est adsorbé un composé inerte. Car finalement les biomolécules, les cellules, les organismes interagissent avec la surface de la nanoparticule et non avec son cœur. Il a été démontré qu'au contact des fluides biologiques, une couronne de molécules se forme à la surface de la nanoparticule. Cette couronne ne doit pas être perçue comme un système figé : lors du transit de la nanoparticule d'un fluide à l'autre, du milieu extracellulaire au milieu intracellulaire, ou d'un organe à l'autre, cette couronne se modifie en gardant toutefois une empreinte des fluides dans lesquels la nanoparticule a séjourné (figure 7).

Ainsi une nanoparticule qui a été inhalée fixe dans un premier temps des composants du mucus pulmonaire à sa surface. Si cette nanoparticule est alors internalisée dans une cellule pulmonaire, alors les composants du mucus se détachent de sa surface, pour laisser place à des composants du cytosol de la cellule pulmonaire. Et ainsi de suite, si la nanoparticule est transférée à travers la barrière pulmonaire vers le sang, des éléments du sang se fixent alors sur sa surface et chassent une partie des composants du cytosol de la cellule pulmonaire. La nanoparticule peut alors exercer des effets toxiques différents en fonction de son histoire dans l'organisme, et ponctuellement en fonction des substances qui se trouvent fixées à sa surface. Toute la complexité des études de toxicité sur les nanoparticules est alors facilement appréciable.

Il est également compréhensible qu'une nanoparticule qui a été conçue pour être très réactive (par exemple une nanoparticule d'or, qui est un puissant catalyseur de réactions chimiques) peut être totalement inactivée si la surface réactive est couverte par un composé inerte. Une étude récemment publiée montre à ce propos que lorsque des nanotubes de carbone sont recouverts d'un polymère à base de polystyrène, ils engendrent des effets toxiques beaucoup moins importants que lorsqu'ils ne sont pas recouverts [14].

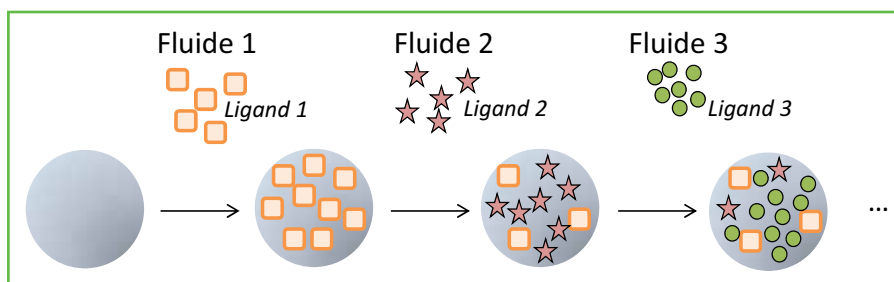


Figure 7 - Constitution d'une couronne de molécules à la surface de la nanoparticule.

La nanoparticule garde une empreinte des fluides dans lesquels elle a séjourné. Finalement, la nanoparticule interagissant avec les cellules présente un profil de surface spécifique de sa voie d'entrée dans l'organisme, des fluides ayant assuré son transfert vers l'organe cible, et de la cellule dans laquelle elle s'est accumulée.

S'ouvre alors la perspective de développer des nanoparticules présentant des propriétés aussi intéressantes que celles qui sont actuellement employées dans les produits de grande consommation, mais qui sont plus sûres de par leur conception. Ainsi en modulant la taille, la forme, la surface spécifique, la couronne de surface des nanoparticules (et en s'assurant que cette couronne ne se détachera pas en fin de vie de la nanoparticule), on peut espérer atteindre ce but. C'est aujourd'hui tout l'enjeu des nouveaux programmes de recherches, basés sur l'éco-conception de nanoparticules et leur production « safe by design ».

Perspectives

Les connaissances actuelles relatives à la toxicité des nanoparticules restent parcellaires. Elles proviennent souvent d'expérimentations menées dans des conditions d'exposition peu réalistes. Ces connaissances sont toutefois utiles car elles ont permis d'identifier les réponses des organismes dans les pires scénarios d'exposition : très fortes concentrations, nanoparticules brutes dont la surface est très réactive et qui sont souvent très bien dispersées.

Dans ces conditions d'exposition, les nanoparticules affectent le fonctionnement des organes cibles, mais elles sont également capables de traverser les barrières physiologiques et d'atteindre des organes secondaires par redistribution *via* la circulation sanguine. Les effets sur les organes cibles vont de l'induction d'un stress oxydant à une inflammation locale et des dommages à l'ADN.

Il reste aujourd'hui à évaluer l'impact des nanoparticules dans des conditions d'exposition plus réalistes : concentrations plus faibles et temps plus longs, simulant une exposition chronique, nanoparticules maturées dans des conditions environnementales, ou tout simplement nanoparticules présentant la couverture de surface qu'elles ont réellement lorsqu'elles sont introduites dans les produits de grande consommation.

Il reste surtout à évaluer l'exposition réelle des travailleurs et des populations. Mais pour cela, de nouveaux dispositifs de mesure doivent être développés et implantés dans les différents lieux de production et d'exposition potentielle aux nanoparticules.

Références

- [1] www.nanotechproject.org/inventories/consumer
- [2] http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/pdf/commission_recommendation.pdf
- [3] AFSSET : Les nanomatériaux – Effets sur la santé de l'homme et de l'environnement, juillet 2006 ; Les nanomatériaux – Sécurité au travail, juillet 2008 ; Évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement, mars 2010.

- [4] AFSSA, *Nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale*, mars 2009.
- [5] INRS, *Nanomatériaux – Prévention des risques dans les laboratoires*, ED6115, janvier 2012.
- [6] www.nanosafe.org
- [7] www.nanosmile.org
- [8] AFSSAPS, *État des connaissances relatif aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de zinc dans les produits cosmétiques en termes de pénétration cutanée, de génotoxicité et de cancérogenèse*, 2011 (www.ansm.sante.fr).
- [9] Pluchery O., Carrière M., Les nanoparticules d'or, *Techniques de l'Ingénieur*, NM900, 2011.
- [10] Carrière M., Lanone S., Que savons-nous aujourd'hui des risques toxicologiques et écotoxicologiques liés aux nanotubes de carbone, *De l'innovation à l'utilisation des nanomatériaux – Le cadre normatif des nanotubes de carbone*, S. Lacour, S. Desmoulin-Canselier, N. Hervé-Fournereau (coord.), Eds Larcier, 2012.
- [11] Johnston H.J., Hutchison G.R. et al., Identification of the mechanisms that drive the toxicity of TiO₂ particulates: The contribution of physicochemical characteristics, *Particle and Fibre Toxicology*, 2010, 6(33).
- [12] Soenen S.J., Rivera-Gil P. et al., Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for improved nanotoxicity evaluation, *Nano Today*, 2011, 6, p. 446.
- [13] Jugan M.L., Barillet S. et al., Titanium dioxide nanoparticles exhibit genotoxicity and impair DNA repair activity in A549 cells, *Nanotoxicology*, 2012, 6, p. 501.
- [14] Tabet L., Bussy C. et al., Coating carbon nanotubes with a polystyrene-based polymer protects against pulmonary toxicity, *Part Fibre Toxicol.*, 2011, 8(3).
- [15] Chaudhry Q., Scotter M. et al., Applications and implications of nanotechnologies for the food sector, *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo Risk Assess*, 2008, 25(3), p. 241.



Marie Carrière

est chercheuse au CEA, au Laboratoire Lésions des acides nucléiques, Grenoble* (photo © L. Godart/CEA).

* Laboratoire Lésions des acides nucléiques, UMR E_3 CEA/Université Joseph Fourier, DSM/INAC/SCIB, 17 rue des Martyrs, F-38054 Grenoble Cedex.
Courriel : marie.carriere@cea.fr



Institut de Chimie Moléculaire de Reims UMR CNRS 7312



Avec un effectif de plus de 110 titulaires et contractuels, l'ICMR développe son activité autour de 5 axes de recherche :

- Méthodologie en synthèse organique
- Biomolécules : synthèse et mécanismes d'action
- Chimie de coordination
- Isolement et structure
- Polymères fonctionnels et réseaux

La plate-forme d'analyse et de transformation (PIAnET) mise en œuvre par l'ICMR apporte un appui aux projets des laboratoires du site rémois ainsi qu'aux partenaires scientifiques externes et aux entreprises, pour la caractérisation structurale des composés moléculaires (produits de synthèse, substances naturelles) et l'analyse chimique quantitative.

Les travaux réalisés débouchent sur de nombreux partenariats de l'ICMR avec le secteur industriel (ARD, Astrium-ST, BASF Beauty Care, Guerbet, Lonza, LVMH, Michelin, Pierre Fabre, Soliance...).

Les domaines de recherche de l'ICMR s'inscrivent dans la stratégie des pôles de compétitivité Industries et Agro-Ressources (IAR) et Matériaux, dans les thématiques des structures fédératives CAP-santé et Condorcet (agro-sciences et environnement) et dans des réseaux et groupes thématiques du CNRS (GDR BioMatPro, Chimiothèque Nationale).

L'ICMR est laboratoire support pour les formations Master de l'Université de Reims Champagne Ardenne dans les domaines de la chimie, de la pharmacie, des nano-sciences, de la qualité, de l'environnement et des agro-sciences.



L'ICMR recrute chaque année une quinzaine de doctorants, chercheurs contractuels et permanents.

Les offres correspondantes peuvent être consultées sur le site Internet : www.univ-reims.fr/icmr

Exposition et impact environnemental au cours du cycle de vie des nanomatériaux commercialisés

Mélanie Auffan, Perrine Chaurand, Céline Botta, Jérôme Labille, Armand Masion, Jean-Yves Bottero et Jérôme Rose

Résumé	De nombreuses applications de la vie courante utilisent des produits à base de nanomatériaux. La libération de nanoparticules dans les eaux naturelles à partir de ces nanomatériaux commercialisés est jusqu'à présent très peu étudiée. Cependant, une éventuelle contamination environnementale exposerait les individus directement ou par le biais des transferts trophiques. À l'heure actuelle, toutes les études de nano-(éco)toxicologie montrent qu'une réponse simple, rapide ou encore facilement généralisable à l'ensemble des groupes d'organismes exposés aux nanomatériaux tout au long de leur cycle de vie ne sera pas possible. Il est donc nécessaire d'anticiper les risques éventuels associés à ces nouveaux matériaux et de former une nouvelle génération de nanomatériaux préservant l'environnement, lors de la synthèse des nanoparticules, leur formulation de surface, leur incorporation dans les produits finaux, l'utilisation des nanoproducts, mais aussi lors de la fin de vie de ces produits.
Mots-clés	Nanotechnologie, écotoxicologie, environnement, dégradation, recyclage, mésocosmes, éco-conception, développement durable, cycle de vie.
Abstract	Exposure and environmental impact during the life cycle of manufactured nanomaterials The current and foreseen applications of manufactured nanomaterials embrace a wide range of technological domains. The release of nanoparticles from these nanomaterials in natural waters remains poorly investigated. However, such an environmental contamination will directly or indirectly (through trophic transfers) exposes the organisms to nanoparticles. Today, all nano-ecotoxicological studies performed towards organisms show that it is impossible to study the impacts of nanomaterials all along their life cycle with a case-by-case approach. Consequently, it is necessary to anticipate the risk related to these new materials and to develop a new generation of safer by design nanomaterials from the earliest production stages of nanoparticles, to their formulation, their incorporation in the final product, the use of this product, and also to their end of life (recycling, disposal).
Keywords	Nanotechnology, ecotoxicology, environment, degradation, end of life, mesocosms, eco-conception, sustainable development, life cycle.

Les nanotechnologies constituent une innovation et un enjeu économique majeurs. La taille nanométrique des nanoparticules leur confère des propriétés particulières par rapport au matériau massif [1]. Cette spécificité favorise l'émergence de matériaux nouveaux qui répondent à des contraintes de réactivité, de conductivité ou encore de sensibilité optique non accessible autrement. Avec les nanotechnologies, nous sommes donc confrontés à des comportements moléculaires nouveaux et encore inconnus. C'est pourquoi un certain nombre d'interrogations sont posées aux niveaux national, européen et international sur les risques sur la santé et l'environnement potentiellement associés à ces nouvelles technologies. En particulier, la dissémination potentielle dans l'environnement de nanomatériaux manufacturés produits en masse soulève des interrogations [2]. L'histoire des risques sanitaires, technologiques et environnementaux montre que leur gestion *a posteriori* est

source de graves problèmes. Cela renvoie à l'importance d'une évaluation des risques liés aux nanotechnologies la plus précoce possible.

Les nanomatériaux ont attiré l'attention des scientifiques quant à leur dangerosité vis-à-vis de l'être humain, du fait de leur pénétration et des dommages créés dans les organismes. En effet, les données disponibles à ce jour montrent que certains nanomatériaux peuvent franchir les barrières biologiques et se distribuer dans les organismes [3-6]. D'autres études montrent qu'en fonction de leur stabilité physico-chimique (aggrégation, complexation avec la matière organique, dissolution, oxydation, réduction, génération d'espèce réactive de l'oxygène...), les réponses écotoxicologiques seront différentes [7].

Cependant, les études actuelles sur la toxicité des nanomatériaux renseignent exclusivement sur la biodisponibilité et/ou la toxicité de nanoparticules pures, c'est-à-dire la

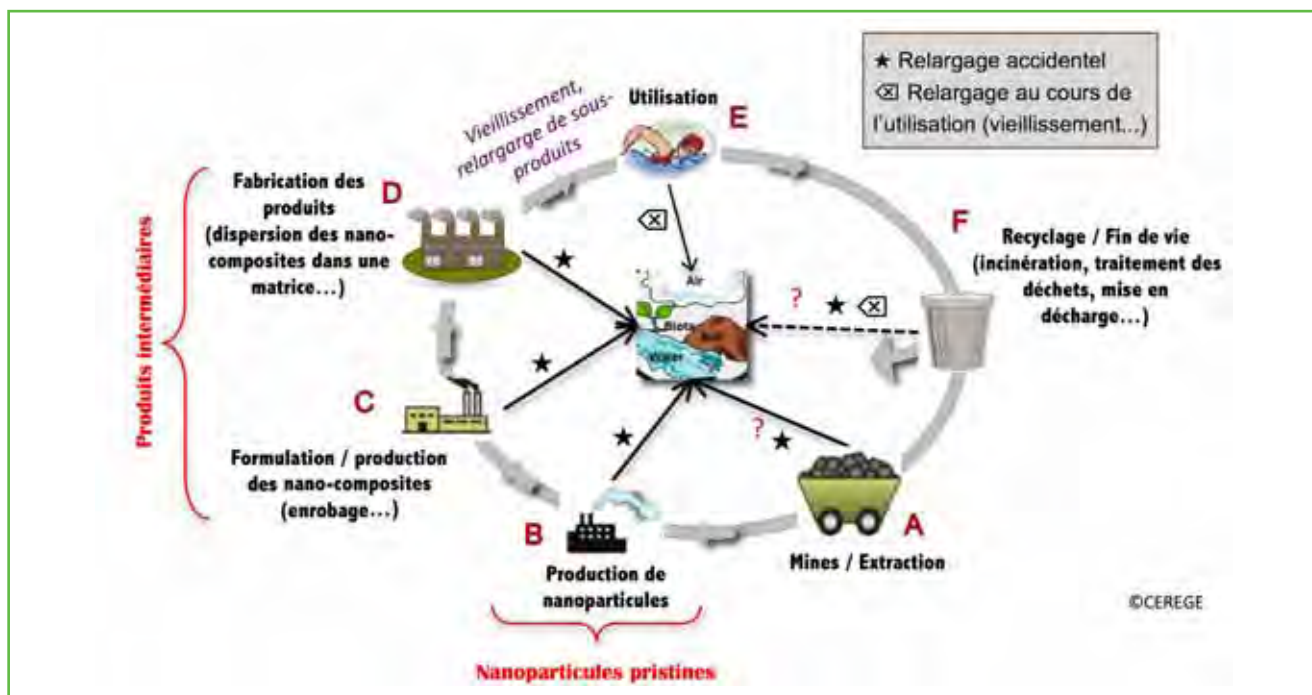


Figure 1 - Impact des nanomatériaux tout au long de leur cycle de vie.

première étape du cycle de vie des nanotechnologies (figure 1, stade B). On peut légitimement se poser la question de leur représentativité car la plupart des nanoparticules sont formulées en surface (figure 1, stade C) avant d'être incorporées dans des matrices liquides ou solides (par exemple : pneumatiques, peintures, verres, crèmes... ; figure 1, stade D). Les nanoparticules auxquelles l'environnement et l'Homme seront les plus exposés seront issues de nanocomposites ou de nanoproducts les contenant initialement et/ou ayant subi une altération lors de leur utilisation (figure 1, stade E) ou de leur mise en décharge (figure 1, stade F).

Le vieillissement de nanoproducts commercialisés : l'exemple des crèmes solaires

À ce jour, plus de 1 300 produits commercialisés incorporent des nanomatériaux. Près de la moitié de ces produits (~ 600) concernent les domaines de la santé, du bien-être et des cosmétiques, les produits de haute technologie ne représentant que 20 % [8]. Les produits cosmétiques comme les crèmes solaires utilisent notamment des nanoparticules de dioxyde de titane TiO_2 pour leur pouvoir filtrant aux UV. Ces crèmes ont une très courte durée d'utilisation et sont éliminées dès le premier bain. Les formulations à base de nanoparticules de TiO_2 (par exemple enrobages d'hydroxyde d'aluminium et de polydiméthyl siloxane PDMS, figure 2) sont ainsi déversées directement dans les eaux de baignade, les piscines et les eaux usées. Il existe très peu d'informations sur les quantités de TiO_2 potentiellement relarguées par ces crèmes, les processus de dégradation et les propriétés de surface des résidus de dégradation. Pourtant, la biodisponibilité et la toxicité potentielle de ces résidus contenant des nanoparticules de TiO_2 dépendent en grande partie des propriétés de surface (par exemple charge

de surface, chimie de surface) et donc du degré d'altération du nanoproduct.

Nous nous sommes intéressés au comportement dans l'environnement de formulations à base de nanoparticules de TiO_2 utilisées dans les crèmes solaires [9-11]. Quatre écrans solaires (indice de protection supérieur à 50) contenant 4 à 6 % de TiO_2 ont été altérés dans des conditions environnementales douces (pH neutre, faible force ionique, spectre solaire, température ambiante) [9]. En 48 h, 30 % des nanoparticules de TiO_2 initialement présentes dans ces crèmes sont relargués et se retrouvent dans une phase colloïdale stable (diamètre hydrodynamique moyen de ~ 700 nm). Ces formulations, initialement hydrophobes à cause de l'enrobage de PDMS acquièrent en moins de 2 h un caractère hydrophile via la désorption de 90 % de l'enrobage organique (figure 2). En revanche, la couche protectrice de AlOOH persiste en surface des nanoparticules de TiO_2 , ce qui empêche la génération d'espèces réactives de l'oxygène par le cœur photocatalytique de TiO_2 . Ce changement de comportement physico-chimique et de propriétés de surface jouera un rôle important en termes d'évaluation de l'exposition et de l'impact de ces résidus nanométriques issus de la dégradation de nanoproducts vis-à-vis des différents compartiments des écosystèmes (sols, eau, biota⁽¹⁾).

Exposition des organismes aquatiques aux nanomatériaux à différents stades de leur cycle de vie

En milieu aquatique, plusieurs voies d'exposition des organismes vivants peuvent être envisagées : la voie respiratoire (via les branchies), la surface tégumentaire, ou encore la voie trophique (via le système digestif). En fonction de la charge de surface, de l'état d'agrégation (taille et dimension fractale des agrégats) et de la stabilité chimique, certaines voies d'exposition seront favorisées. Ainsi, une modification

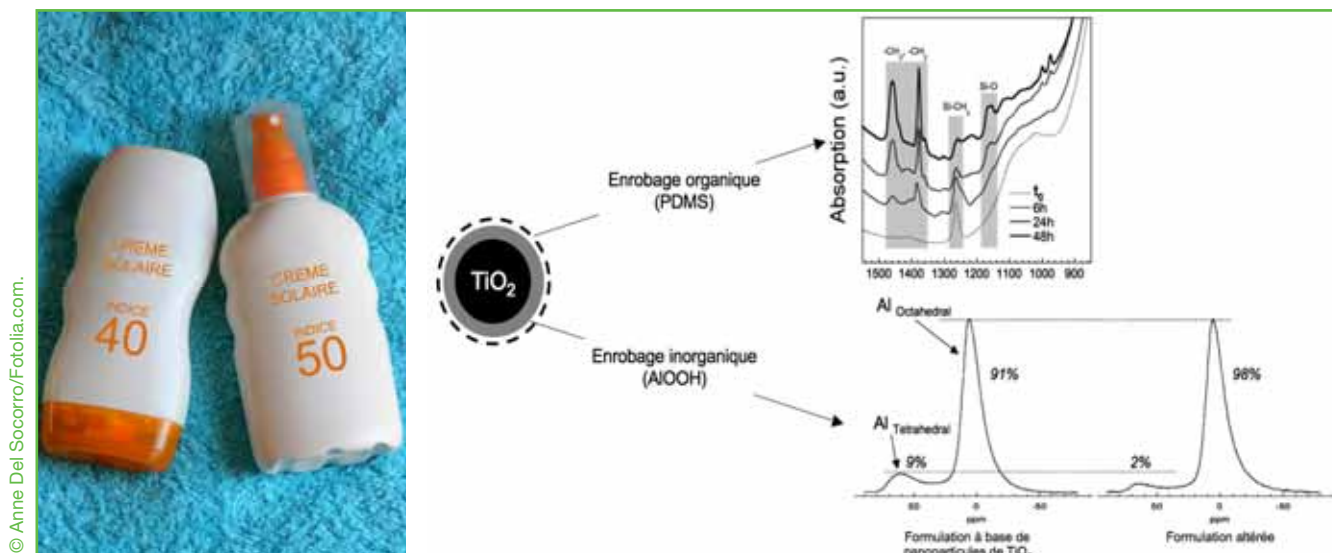


Figure 2 - Évolution des propriétés physico-chimiques de formulation à base de nanoparticules de TiO_2 utilisées dans les crèmes solaires. La stabilité de l'enrobage organique a été suivie par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. La stabilité de la couche d' AlOOH protectrice a été suivie par résonance magnétique nucléaire de l'aluminium. D'après [11].

des propriétés de surface des nanomatériaux au cours de leur cycle de vie influencera fortement la composante « exposition » des risques environnementaux associés aux nanotechnologies.

Tel est le cas des formulations à base de nanoparticules de TiO_2 utilisées dans les crèmes solaires (figure 2). Avant altération, le caractère hydrophobe de la surface des nanoparticules de TiO_2 fait qu'elles ne se dispersent pas dans le milieu aquatique. Les risques pour que les organismes vivant dans la colonne d'eau ou à la surface des sédiments soient exposés à ces formulations sont donc faibles. En revanche, une fois altérées, les nanoparticules de TiO_2 enrobées d' AlOOH sont hydrophiles et se dispersent facilement dans le milieu aquatique [10-11]. Ces formulations altérées ont été incubées avec *Daphnia magna* (puce d'eau) [12]. Le transfert au sein de cet organisme a été étudié par spectromicroscopie à rayons X. En moins de 2 h, une ingestion de TiO_2 est observée (figure 3). Cette internalisation via la voie trophique induit une diminution de la croissance et du taux de repro-

duction de daphnies [12]. En revanche, à l'inverse des nanoparticules de TiO_2 pures (non enrobées), aucune mortalité n'est observée suite à l'incubation de *Daphnia magna* avec ces formulations altérées [2].

Cependant, la majeure partie des études en nano-écotoxicologie concernent des organismes modèles exposés aux nanomatériaux dans des milieux bien contrôlés. À ce jour, il est nécessaire pour les industriels et les agences gouvernementales que des recherches soient menées dans des conditions d'exposition plus proches de la réalité. Depuis peu, des études sont menées en mésocosmes⁽²⁾ (aquatiques et terrestres) afin de prendre en compte les transferts trophiques, la distribution des nanoparticules entre le sédiment, l'eau et le biota, l'hétéroaggrégation avec les colloïdes naturels, l'accumulation dans les biofilms et les mécanismes de (bio)dégradation dans les études d'impacts des nanomatériaux. Ces études permettront de comprendre les mécanismes gouvernant le comportement et les effets des nanomatériaux dans des écosystèmes et de développer des modèles de risques environnementaux pertinents.

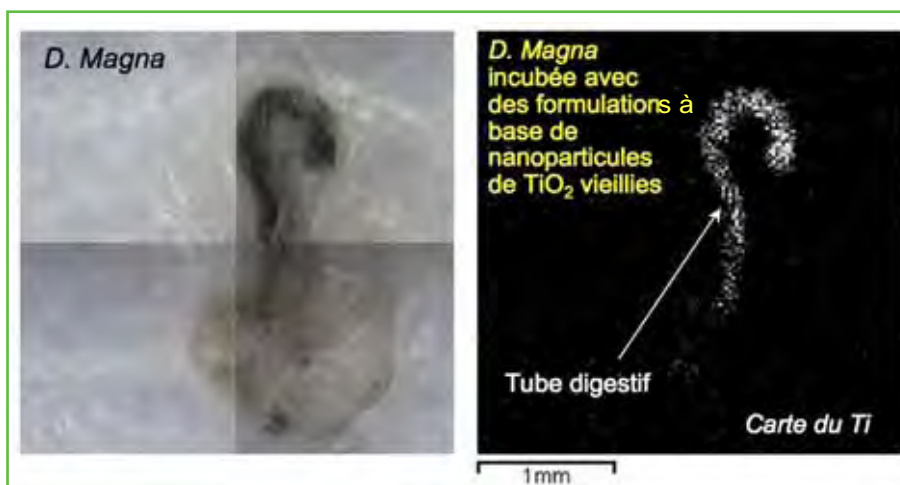


Figure 3 - Ingestion par *Daphnia magna* de nanoparticules de TiO_2 provenant de formulations utilisées dans les crèmes solaires altérées dans des conditions physico-chimiques douces. Images obtenues par microscopie de fluorescence X. D'après [12].

Vers l'éco-conception de nanomatériaux innovants, durables et sûrs

L'utilisation de produits commercialisés incorporant des nanomatériaux ne cesse de croître. À l'heure actuelle, toutes les études d'(éco)toxicologie montrent qu'une réponse simple, rapide ou encore facilement généralisable à l'ensemble des groupes d'organismes exposés aux nanomatériaux tout au long de leur cycle de vie ne sera pas possible. Il se dégage néanmoins plusieurs paradigmes : (i) l'importance de l'internalisation des nanomatériaux qui contrôle quels sont les organes ou les fonctions biologiques les plus affectés ;

(ii) l'importance de leur réactivité intrinsèque et des propriétés de surface des nanomatériaux ; (iii) le stress oxydant induit par les nanomatériaux (oxydation, réduction, dissolution, génération d'espèce réactive de l'oxygène) qui est un point commun fréquent de leurs effets biologiques.

Il est donc nécessaire d'anticiper les risques éventuels associés à ces nouveaux matériaux et de former une nouvelle génération de nanomatériaux préservant l'environnement, lors de la synthèse des nanoparticules, leur formulation de surface, leur incorporation dans les produits finaux, l'utilisation des nanoproducts, mais aussi lors de la fin de vie de ces produits. Parmi les multiples enjeux autour de l'éco-conception des nanomatériaux, la question du devenir en fin de vie (recyclage, réutilisation, biodégradation, devenir dans l'environnement, etc.) est importante et n'a actuellement pas de réponse. L'interdisciplinarité imposée par cette éco-conception demande de comprendre les mécanismes d'interactions entre la matière inerte (nanoparticule pure) et la matière vivante (de l'échelle de l'ADN aux chromosomes, aux cellules et aux organismes), afin de diminuer l'exposition et le danger liés aux nanomatériaux. Les principaux challenges à moyen terme se situent principalement au niveau de la détection et de l'identification des nanoparticules anthropiques dans des systèmes complexes, de la quantification des nanoparticules produites et de l'efficacité des technologies d'élimination.

Ces recherches ont été menées dans le cadre du groupement de recherche international iCEINT (« International consortium for the environmental implications of nanotechnology »). Les auteurs remercient le CNRS et le CEA pour le financement d'iCEINT ainsi que l'Agence nationale de la recherche pour le financement des programmes AgingNano&Troph et Mesonnet.

Notes et références

- (1) *Biota* : ensemble des êtres vivants (faune et flore) d'une région ou d'une période géologique.
- (2) *Mésocosme* : écosystème artificiel clos destiné aux études écologiques.
- [1] Auffan M., Rose J., Bottero J.Y., Lowry G., Jolivet J.P., Wiesner M.R., Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health, and safety perspective, *Nature Nanotech.*, **2009**, 4, p. 634.
- [2] Kahru A., Dubourguier H.-C., From ecotoxicology to nanoeotoxicology, *Toxicology*, **2010**, 269(2-3), p. 105.
- [3] Hull M.S., Chaurand P., Rose J., Auffan M., Bottero J.Y., Jones J.C., Schultz I.R., Vikesand P.J., Filter-feeding bivalves store and biodeposit colloidal stable gold nanoparticles, *Environ. Sci. Technol.*, **2011**, 45(15), p. 6592.
- [4] Yang X., Gondikas A., Marinakos S.M., Auffan M., Liu J., Hsu-Kim H., Meyer J., Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in *Caenorhabditis elegans*, *Environ. Sci. Technol.*, **2012**, 46, p. 1119.
- [5] Yin L., Cheng Y., Espinasse B., Colman B.P., Auffan M., Wiesner M., Rose J., Liu J., Bernhardt E.E., More than the ions: the effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*, *Environ. Sci. Technol.*, **2011**, 45, p. 2360.

- [6] Kwok K., Auffan M., Badireddy A.R., Nelson C.M., Wiesner M., Chilkoti A., Liu J., Marinakos S.M., Hinton D.E., Uptake of silver nanoparticles and toxicity to early life stages of Japanese medaka (*Oryzias latipes*): Effect of coating materials, *Aquatic Toxicology*, **2012**, 120-121, p. 59.
- [7] Auffan M., Bottero J.Y., Chaneac C., Rose J., Inorganic manufactured nanoparticles: how their physico-chemical properties influence their biological effects in aqueous environments, *Nanomedicine*, **2010**, 5(6), p. 999.
- [8] Afsset, Nanomatériaux et produits de consommation, *Saisine Afsset*, **2010**, n° 2010/003.
- [9] Botta C., Labille J., Auffan M., Borschneck D., Miche H., Cabié M., Masion A., Rose J., Bottero J.-Y., TiO₂-based nanoparticles released in water from commercialized sunscreens in a life-cycle perspective: structures and quantities, *Environ. Pollut.*, **2011**, 159(6), p. 1543.
- [10] Labille J., Feng J., Botta C., Borschneck D., Sammut M., Auffan M., Rose J., Bottero J.-Y., Aging of TiO₂ nanocomposites used in sunscreen creams: Dispersion and fate of the byproducts in aqueous environment, *Environ. Pollut.*, **2010**, 158(12), p. 3482.
- [11] Auffan M., Pedetour M., Rose J., Masion A., Ziarelli F., Borschneck D., Chaneac C., Botta C., Chaurand P., Labille J., Bottero J.Y., Surface structural degradation of a TiO₂-based nanomaterial used in cosmetics, *Environ. Sci. Technol.*, **2010**, 44(7), p. 2689.
- [12] Fouqueray M., Dufils B., Vollat B., Chaurand P., Botta C., Abacci K., Labille J., Rose J., Garric J., Effects of aged TiO₂ nanomaterial from sunscreen on *Daphnia magna* exposed by dietary route, *Environ. Pollut.*, **2012**, 163, p. 55.



M. Auffan



J. Labille



A. Masion



P. Chaurand



J.-Y. Bottero



J. Rose



C. Botta

Mélanie Auffan (auteur correspondant), Jérôme Labille et Armand Masion sont chargés de recherche au CNRS, Perrine Chaurand est ingénieur de recherche AMU, Jean-Yves Bottero et Jérôme Rose sont directeurs de recherche. Ils travaillent tous au CEREGE (Aix-Marseille Université)¹⁻², où Céline Botta a effectué un post-doctorat.

¹ Aix-Marseille Université, CEREGE – UMR 7330 CNRS/AMU, Équipe « Interfast : interfaces et transferts », Europole de l'Arbois, BP 80, F-13545 Aix-en-Provence Cedex 4.

Courriel : auffan@cerege.fr

² GDRI iCEINT (International Consortium for the Environmental Implications of Nanotechnology).

Les risques chimiques : un fort besoin de dialogue

Retours sur un cycle d'échanges à l'Université de Lyon

Nathalie Fabre

Résumé En 2011, l'Université de Lyon a consacré un cycle de dialogue et débat *Et si on en parlait* aux relations entre chimie et société. On constate aujourd'hui des exigences accrues de sécurité de la part tant des professionnels que des citoyens. Or la chimie – dans son projet même de réarranger la matière – inclut toujours une part de risque. Dès lors, comment décider de la part de risque socialement acceptable ? Face aux incertitudes qui accompagnent les développements de la chimie, un important besoin de dialogue se fait sentir, pour forger une culture commune des risques et fonder un nouveau pacte social entre chimie et société.

Mots-clés Risques, incertitude, perception sociale, décision, gouvernance, dialogue.

Abstract **Chemical risks: a great need of dialogue. Feedback on a cycle of debates at the University of Lyon**
In 2011, the University of Lyon dedicated a cycle of dialogue and debate *Let's talk about it* to the relations between chemistry and society. We notice today greater requirements of safety from both professionals and citizens. But chemistry always includes a part of risk, as it aims to re-arrange the components of reality. Thus how can we decide which part of risk is socially acceptable? To face the uncertainty, a new system for dialogue is required, to forge a common culture regarding risk and establish a new social pact between chemistry and society.

Keywords Risks, uncertainty, social perception, decision, governance, dialogue.

Créé en 2010 au sein de l'Université de Lyon, le dispositif *Et si on en parlait* [1] favorise la rencontre et le débat autour de sujets de sciences qui s'inscrivent dans des problématiques de société. Il s'articule en différents moments d'échanges entre chercheurs, professionnels et citoyens : ateliers, visites de site, séminaires interprofessionnels et soirées-débats. Dans le cadre de l'Année internationale de la chimie en 2011, un cycle de dialogue a été consacré à la thématique « Chimie et société : quel dialogue ? » (voir encadré). Ce sujet a particulièrement intéressé le public professionnel, mais a également permis d'échanger avec des citoyens plus éloignés de ces questions. Au total, 145 personnes ont pris part aux événements organisés et un intéressant panel d'avis et de questionnements a pu être recueilli, dont nous nous faisons l'écho dans cet article (les propos et avis rassemblés ici émanent des différents temps d'ateliers et de débat).

Les risques au cœur des préoccupations des citoyens et des professionnels ?

Premier constat : si la chimie suscite de la fascination, elle génère aussi beaucoup d'inquiétudes quant à ses effets possibles sur la santé et l'environnement. Les risques liés aux produits chimiques sont aujourd'hui très mal perçus, et les efforts engagés pour sécuriser les procédés et réduire les impacts ont été largement discutés : réglementation REACH [2], évolution vers une chimie verte ou durable [3], intégration

des problématiques environnementales dans les pratiques, etc.

Les professionnels ne sont pas en reste et, loin de tirer fierté de la manipulation de produits dangereux, la nouvelle génération de chimistes exige aujourd'hui davantage de sécurité, comme l'a souligné le professeur de chimie Marc Lemaire [4] lors de la soirée-débat. Il semble au demeurant que les risques diffus (pollutions, effets cancérigènes, perturbateurs endocriniens...) génèrent aujourd'hui autant ou davantage d'inquiétude que les risques industriels (Bhopal, AZF...). Une participante aux ateliers a ainsi souligné : « *Il y quand même un risque [...] bien présent, et tous les jours : c'est la pollution. On parle beaucoup du risque-danger et pas tellement du risque-pollution qui est quand même bien réel, que ce soit par l'odeur, par le sous-sol, par l'eau...* »

Néanmoins, comme l'a rappelé Andrée Marquet, professeur émérite de chimie [5], l'attitude des citoyens à l'égard de la chimie est en réalité assez nuancée. Ce qui est ressorti en premier lieu d'une consultation réalisée auprès d'une cinquantaine de personnes [6], ce sont les interrogations sur la science chimique et le besoin d'informations de qualité. Même si les effets négatifs sont clairement pointés, le rôle de la chimie dans tous les domaines de la vie quotidienne est aussi bien reconnu. Cette remarque d'un enquêté témoigne de l'attitude ambivalente à l'égard de la chimie : « *Comme Janus, la chimie a deux faces : elle suscite à la fois fascination et crainte.* »

Détail des rencontres organisées en 2011 par l'Université de Lyon dans le cadre de la dynamique <i>Et si on en parlait</i> « Chimie et société : quel dialogue ? » (www.universite-lyon.fr/etsionenparlait)			
	Titre et description	Chercheurs présents	Public
14 mai	Atelier <i>La chimie au service de la santé : un outil pour le diagnostic médical ?</i> : visite d'un laboratoire de chimie de l'Institut de nanotechnologies de Lyon (INL), École centrale	Jean-Pierre Cloarec, enseignant-chercheur en chimie [17] et deux doctorants	Citoyens experts ou non du sujet en débat (~ 15 personnes)
18 mai	Atelier <i>Découverte de la Vallée de la chimie</i> : balade urbaine	François Duchêne, géographe [7]	Citoyens experts ou non du sujet en débat (~ 15 personnes)
21 mai	Atelier <i>La nature, une ressource chimique ?</i> : visite du Centre d'étude des substances naturelles, situé à l'Université Lyon 1 - La Doua	Gilles Comte, phytochimiste [18]	Citoyens experts ou non du sujet en débat (~ 15 personnes)
15 juin	Séminaire interprofessionnel <i>Chimie et société : quel dialogue ?</i>	Andrée Marquet, professeur émérite de chimie organique [5] ; Thierry Coanus, chercheur à l'ENTPE [7] ; Anne-Marie Laulan, professeur émérite de sociologie [15] ; Hervé Joly, historien des entreprises et industries [19]	37 professionnels présents (professionnels du secteur de la chimie, communicants, acteurs des collectivités territoriales, acteurs du milieu éducatif et associatif...)
12 octobre	Soirée-débat <i>Environnement-santé et développement durable : une autre chimie est-elle possible ?</i>	Marc Lemaire, professeur de chimie [4] ; Laurence Lestel, chargée de recherche en histoire de la chimie [12] ; Emmanuel Lemazurier, docteur en biochimie et biologie moléculaire [20]	60 personnes présentes, professionnels et citoyens experts ou non des sujets en débat



Balade urbaine à la découverte de la Vallée de la chimie avec François Duchêne [7], mai 2011. © Université de Lyon/Thierry Fournier.

On retrouve cette même oscillation entre confiance et inquiétude dans les perceptions des riverains des installations chimiques classées. Chercheur à l'ENTPE [7], Thierry Coanus a insisté sur la connaissance empirique de leur environnement qu'ont les résidents de la Vallée de la chimie [8]. Cette connaissance est fondée sur des perceptions sensorielles extrêmement fines et les conduit à formuler – à tort ou à raison – des hypothèses interprétatives sur chaque changement ressenti. En particulier, l'enquête réalisée sur la relation des riverains à l'industrie chimique [9] a révélé l'importance de la dénégation et du recours à des « *protections symboliques* » ou à des « *mistigris du risque* » : on observe ainsi, chez certains riverains, une forme de « *cécité paysagère* », c'est-à-dire une tendance à refuser de voir et de penser les risques pour continuer à vivre en zone dangereuse. Selon le paysagiste Michel Corajoud [10], il faut massivement réimplanter du végétal pour rassurer la population. « *Si un arbre peut pousser ici, je peux vivre là* », se diraient en somme les habitants. Une réaction qui traduit quelque chose d'important dans la relation des populations à la source du danger et qui est donc à prendre au sérieux, aussi dérisoire que cette attitude puisse paraître par rapport au savoir scientifique et technique. « *Il n'y a pas d'irrationalité, il y a*

d'autres rationalités éventuellement, mais certainement pas d'irrationalité » (T. Coanus).

Le refus contemporain des risques en question

Plusieurs éléments d'explication ont été apportés tout au long des rencontres, pour éclairer les exigences accrues de sécurité de la part des citoyens et des professionnels. C'est surtout à partir des années 1960 qu'a émergé une forte prise de conscience environnementale, avec notamment la publication en 1962 du *Printemps silencieux* de la biologiste Rachel Carson, premier livre sur les effets destructeurs de certains pesticides sur la faune [11]. Les problèmes de pollutions et les accidents qui ont ponctué l'histoire de la chimie ont clairement contribué à entacher son image. Néanmoins, selon Laurence Lestel, chargée de recherche en histoire de la chimie [12] et intervenante lors de la soirée-débat, ce qui a vraiment changé, ce n'est pas tant la conscience des dangers que leur acceptation.

Les préoccupations sanitaires ont en effet émergé très tôt, avec une première question posée en 1804 à l'Institut de France sur les effets des émanations nauséabondes des



La soirée-débat « chimie », octobre 2011.

usines. Mais au XIX^e siècle, dans un contexte caractérisé par une forte pénibilité de la vie, les dangers étaient alors relativement bien acceptés eu égard aux bénéfices attendus. Les chapeliers, par exemple, manipulaient sciemment des nitrates de mercure toxiques pour feutrer les peaux de lapin, ce qui leur permettait de générer d'importants revenus [13]. Une telle situation ne serait plus acceptée aujourd'hui : l'éradication des crises alimentaires en Europe, l'augmentation de la durée de vie et la progression du confort ont conduit à une profonde évolution des exigences citoyennes. « *Les problématiques évoluent, deviennent de plus en plus fines et la société accepte de moins en moins les risques* » (L. Lestel).

Le refus contemporain des risques pose question car, dans son projet même de réarranger la matière, la chimie inclut toujours une dimension prométhéenne : « *la chimie crée son objet* » [14] et cette faculté créatrice inclut toujours une part de risque. Les chercheurs ont d'ailleurs rappelé que, scientifiquement parlant, « *le risque zéro n'existe pas* » : compte tenu des moyens actuels d'investigation, l'innocuité des produits ne peut être garantie. Refuser tout risque impliquerait alors de se priver de toute innovation. De ce point de vue, l'attitude de certains consommateurs à l'affût de nouvelles innovations technologiques a été pointée comme manquant de cohérence.

Il semble donc important de pouvoir transmettre aux citoyens les outils, le savoir et la culture nécessaires à la construction d'une opinion avisée, afin de pouvoir appréhender au mieux les enjeux du débat dans toute leur complexité. De ce point de vue, la communication de l'industrie chimique gagnerait à être repensée : la nécessité de communiquer de manière positive et la « *peur de la peur* » des citoyens conduisent souvent les industriels à émettre des messages rassurants, qui ne laissent pas de place à l'incertitude. Souvent jugé insuffisant et partial, ce type de communication induit des effets contreproductifs. Il contribue à entretenir l'illusion d'un possible risque zéro, tout en suscitant des réactions de méfiance de la part des citoyens.

Pour apaiser les relations entre chimie et société, une meilleure connaissance et une plus grande transparence sur les risques liés aux produits chimiques sem-

blent donc constituer un préalable indispensable. Des pistes ont été esquissées pour repenser la communication et ouvrir le dialogue entre chimie et société. Anne-Marie Laulan, professeur émérite de sociologie [15], a par exemple proposé d'encourager le recours à l'art, à l'imaginaire et à la créativité, comme vecteurs efficaces pour apprivoiser les peurs réciproques.

Un défi de taille : décider de la part de risque socialement acceptable

Au-delà de la recherche, de l'information et de la communication sur les risques, les participants aux débats ont pointé les difficultés à effectuer des choix et à arbitrer entre bénéfices et risques : comment déterminer ce qui est acceptable du point de vue de la société et choisir la solution ayant le plus de bénéfices pour l'ensemble des acteurs ? Comment construire une position commune et collectivement partagée, par-delà les éventuels intérêts divergents ?

Les nombreuses incertitudes qui entourent les développements des produits chimiques ajoutent encore de la complexité : comment s'assurer que la solution apportée à un problème, ou que le produit de substitution proposé, ne génère pas de problèmes plus importants ? S'il est déjà



Visite du Centre d'étude des substances naturelles avec Gilles Comte [18], mai 2011.



Visite du Laboratoire de chimie à l'Institut des nanotechnologies de Lyon avec Jean-Pierre Cloarec [17], mai 2011.

difficile de choisir entre des technologies aux bénéfices et aux risques bien évalués, il apparaît encore plus complexe de choisir entre des technologies qui n'existent pas encore ou dont les résultats et impacts ne sont pas ou peu connus.

Une réflexion collective sur les risques, et la part de risque ou d'incertitude qui peut être acceptée socialement, mérite ainsi d'être engagée. Cette réflexion ne saurait être dissociée d'une réflexion sur les usages et les bénéfices attendus. Pour Lydie Nemausat (FRAPNA) [16], il ne suffit pas de s'assurer que les produits ont un cycle de vie qui respecte l'environnement, il faut aussi vérifier que les nouveaux produits sont vraiment nécessaires et utiles, d'un point de vue collectif. La chimie contribue largement à façonner le monde de demain. Le slogan du syndicat professionnel de la chimie allemande, traduit par un participant, est d'ailleurs explicite : « *Formons le futur !* » Ce constat invite à interroger la place et le rôle des différents acteurs dans les choix de recherche et de développement, qui sont aussi des choix de société.

Développer des outils de dialogue pour rêver ensemble la chimie de demain

Les participants ont souligné l'intérêt d'une contribution des sciences humaines et sociales pour éclairer les choix. Lors d'une visite publique dans son laboratoire, le chimiste Jean-Pierre Cloarec, enseignant-chercheur à l'Institut des nanotechnologies de Lyon [17], a ainsi fait état des travaux menés au sein du Laboratoire international associé en nanotechnologies et nanosystèmes, un laboratoire franco-qubécois qui comporte un volet d'étude « Innovations en nanotechnologies : éthique, usages et sociétés. »

La société civile gagnerait également à être associée à ces réflexions, même si la participation des citoyens ne va pas de soi, car la chimie souffre aujourd'hui d'un manque d'intérêt. Laurence Lestel rappelle qu'au moment de sa création au Conservatoire national des arts et métiers, à Paris, au XIX^e siècle, la chaire de chimie industrielle attirait plus de 600 personnes soucieuses de s'informer et de comprendre. En comparaison, les débats sur la chimie peinent aujourd'hui à trouver leur public.

Plusieurs pistes ont finalement été esquissées pour encourager la participation des citoyens aux choix en matière de chimie. Il a notamment été proposé que les citoyens soient consultés lors des évaluations et promotions des chercheurs, pour émettre un avis sur l'intérêt des

recherches menées d'un point de vue social. Diverses instances d'expression collective pourraient également être créées pour réfléchir aux orientations à donner à la chimie en général, dans un esprit de dialogue ouvert et de co-élaboration progressive de solutions.

Il reste fort à faire pour créer les conditions d'une confiance réciproque entre les professionnels de la chimie et les citoyens. Les recherches en toxicologie et en écotoxicologie méritent d'être fortement soutenues. Mais il ne suffit pas de connaître les risques, il faut aussi les appréhender et les apprivoiser collectivement. Une profonde évolution des pratiques s'avère nécessaire pour favoriser la participation des citoyens et l'émergence d'une culture commune des risques. La période de crise actuelle pourrait constituer un terreau favorable au renouveau des espaces de concertation, en s'inspirant des pistes ébauchées lors de nos rencontres et compilées dans cet article.

Pour prolonger ces réflexions, l'Université de Lyon consacre cet automne un nouveau cycle de dialogue à la question de la vulnérabilité de nos sociétés face aux risques climatiques. Une nouvelle thématique qui s'annonce elle aussi très riche... À suivre sur notre blog et sur notre site Internet [1] !

Notes et références

- [1] Organisées par le service Science et Société de l'Université de Lyon, les rencontres *Et si on en parlait* privilégient le questionnement, le dialogue et le débat là où il y a de forts enjeux sociétaux liés aux sciences. Ateliers ludiques, balades urbaines, projections, visites de laboratoires, rencontres de professionnels et soirées-débats permettent une co-construction de réflexions entre des chercheurs de toutes disciplines et divers acteurs de la société civile, experts ou non des sujets en débat. Plus d'infos sur le site de l'Université de Lyon (www.universite-lyon.fr/etsionenparlait) et le blog dédié au dispositif (<http://etsionenparlait.hypotheses.org>).
- [2] REACH : règlement européen sur l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et les restrictions des substances chimiques. Entré en vigueur le 1^{er} juin 2007, REACH vise à assurer un niveau élevé de protection de la santé humaine et de l'environnement contre les risques que peuvent poser les produits chimiques.
- [3] La *chimie verte* (ou *chimie durable*) désigne, de manière large, une chimie inscrite dans une perspective de développement durable. Chimie dépolluante, démarches d'éco-conception, nouveaux procédés chimiques plus respectueux de l'environnement... font partie de la chimie verte.
- [4] Marc Lemaire est professeur de chimie à l'Institut de chimie et biochimie moléculaires et supramoléculaires (ICBMS, UMR 5246, Université Claude Bernard Lyon 1).
- [5] Andrée Marquet est professeur émérite de chimie organique et chimie biologique à l'Université Paris 6.
- [6] Enquête « Chimie et société : quel dialogue ? » réalisée par l'association Culture et Liberté, pour la commission Chimie et Société de la Maison de

- la Chimie en 2010. Voir le numéro spécial « Chimie et société : construire un dialogue » (*L'Act. Chim.*, **2011**, 355), téléchargeable librement sur le site de la revue (http://www.lactualitechimique.org/larevue_som.php?cle=147).
- [7] Thierry Coanus et François Duchêne sont chercheurs au Laboratoire de recherches interdisciplinaires ville, espace, société (RIVES), à l'École nationale des travaux publics de l'État (ENTPE).
- [8] Implantée au sud de Lyon, la Vallée de la chimie abrite, sur une superficie d'environ 800 ha, quatorze établissements chimiques, pétrochimiques et pétroliers classés SEVESO seuil haut, trois centres de recherche dépendant d'Arkema, de Rhodia et de l'Institut Français du Pétrole, ainsi que les technopôles de l'École normale supérieure et de l'Université Claude Bernard Lyon 1.
- [9] Coanus T., Duchêne F., Martinais E., L'industrie chimique et ses riverains : une relation ambivalente. Le cas de la grande région lyonnaise, *Annales des mines - Responsabilité & Environnement*, **2007**, 48, p. 68.
- [10] www.corajoud.com
- [11] Carson R., *Silent Spring*, Houghton Mifflin, **1962** ; Nouvelle édition en français : Carson R., *Printemps silencieux*, Wildproject Éditions, **2012**.
- [12] Laurence Lestel est chargée de recherche en histoire de la chimie (UMR Sisyphe 7619, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6).
- [13] Consulter sur ce sujet les travaux d'André Guillerme, historien des techniques. Par exemple *La naissance de l'industrie à Paris : entre sueurs et vapeurs (1780-1830)*, Éditions Champ Vallon, **2007**.
- [14] Berthelot M., *La Synthèse chimique*, Alcan, Paris, **1860**, p. 275.
- [15] Anne-Marie Laulan est professeur émérite de sociologie à l'Université Michel de Montaigne, Bordeaux 3, et chargée de mission à l'Institut des sciences de la communication du CNRS (ISCC).
- [16] Fédération Rhône-Alpes de protection de la nature.

- [17] Jean-Pierre Cloarec est chimiste au Laboratoire de chimie du département Sciences et technologies des matériaux et des surfaces (STMS) à l'Institut des nanotechnologies de Lyon (INL), École centrale.
- [18] Gilles Comte est phytochimiste au Centre d'étude des substances naturelles (Laboratoire d'écologie microbienne, UMR 5557, Université Claude Bernard Lyon 1).
- [19] Hervé Joly est historien des entreprises et industries au Laboratoire de recherche historique Rhône Alpes (LARHRA) de l'Institut des sciences de l'homme (ISH).
- [20] Emmanuel Lemazurier est docteur en biochimie et biologie moléculaire, chef de projets à l'INERIS (Institut national de l'environnement industriel et des risques).



Nathalie Fabre

est chargée de mission du service Science et Société de l'Université de Lyon*.

* Université de Lyon, Service Science et Société, CCSTI du Rhône, Quartier Sergent Blandan, 37 rue du Repos, F-69361 Lyon Cedex 07.
Courriel : nathalie.fabre@universite-lyon.fr



Le Service Interdisciplinaire sur les Systèmes Moléculaires et les Matériaux



Une UMR CEA-CNRS interdisciplinaire.

Des chimistes, biologistes et physiciens au service de la recherche fondamentale.

De la molécule aux matériaux.

Des nanoobjets à la corrosion et l'altération des cathédrales.

Du recyclage du CO₂ à la réactivité des éléments f.

De la microfluidique aux faisceaux d'ions.

De la chimie et la biochimie sous rayonnement à l'IRM.

Voir sur notre site web nos offres de stages et de doctorats.



UMR 3299 SIS2M

<http://iramis.cea.fr/sis2m/>

Centre d'Etudes de Saclay Bât. 125. 91191 Gif sur Yvette Cedex



L'évaluation des risques toxicologiques vue sous son angle réglementaire

Un aperçu du monde mystérieux du règlement REACH

Jean-Charles Boutonnet

Résumé Les réglementations nationales, européennes et internationales prennent en considération depuis longtemps les dangers et les risques liés à la production, au transport et aux usages des produits chimiques. La mondialisation des échanges et la montée en puissance des préoccupations relatives à la santé et l'environnement ont conduit à l'adoption de textes harmonisés (SGH, Nations unies) et plus structurés (REACH, Union européenne). REACH notamment permet d'accroître les connaissances sur les propriétés des substances. Cet article décrit brièvement le processus de préparation des dossiers d'enregistrement où les données de toxicologie ont une place importante.

Mots-clés Toxicité, toxicologie, dangers, risques, REACH, dossier d'enregistrement, produit chimique, substance chimique.

Abstract Assessment of toxicological risks under a regulatory point of view: an outline of the mysterious world of the REACH regulation
National, European and international regulations deal for many years with hazards and risks of chemicals, during their production, transport and uses. Globalization of international trade together with rise in concerns about health and environmental issues have driven promulgation of harmonised rules (GHS, United Nations) and more structured regulations (REACH, European Union). REACH, in particular, allows an increase of knowledge about chemicals substances. This article describes, in a nutshell, the process of setting up registration dossiers in which toxicological data have a significant place.

Keywords Toxicity, toxicology, hazards, risks, REACH, registration dossier, chemical, substance.

Quelques définitions

Au terme « produit chimique » correspond une définition juridique qui permet de trouver une porte d'entrée dans le domaine complexe des réglementations ayant pour objectif de contrôler les conditions de gestion de cette activité humaine. Le Programme des Nations unies pour l'environnement (PNUE) donne cette définition : « L'expression « *produit chimique* » désigne une substance chimique, soit présente isolément, ou dans un mélange ou une préparation, soit fabriquée ou tirée de la nature, ainsi que les substances utilisées comme produits chimiques industriels ou pesticides. »

Cette définition introduit la distinction entre substances et préparations et remarque que les substances chimiques peuvent provenir directement de la nature, d'origine minérale ou organique, et sont dans ce cas souvent issues de processus biochimiques de synthèse et transformation. Les substances chimiques peuvent d'autre part provenir de réactions chimiques opérées par l'homme, qu'il s'agisse aussi de synthèse ou d'extraction ou divers processus industriels de séparation ou purification. On parle alors de **substances xénobiotiques**.

Que sont, réglementairement parlant, les substances et préparations chimiques ? Là aussi nous disposons de défini-



© Wikimedia/Joe Sullivan.

tions précises. Au sens du Code du travail, « on entend par **substances**, les éléments chimiques et leurs composés tels qu'ils se présentent à l'état naturel ou tels qu'ils sont obtenus par tout procédé de production contenant éventuellement

tout additif nécessaire pour préserver la stabilité du produit et toute impureté résultant du procédé, à l'exclusion de tout solvant pouvant être séparé sans affecter la stabilité de la substance ni modifier sa composition » (article R4411-3) et « on entend par **préparations**, les mélanges ou solutions composés de deux substances ou plus » (article R4411-4).

Historique des réglementations

D'un point de vue historique, la réglementation des produits chimiques en France remonte à un texte publié sous le Premier Empire, en 1810, concernant les établissements insalubres incommodes ou dangereux⁽¹⁾. Au XIX^e siècle, l'exposition des travailleurs aux produits chimiques dangereux suscita l'introduction de mesures de prévention dans le droit du travail⁽²⁾. Au niveau européen, il faut retenir l'adoption en 1967 de la Directive 67/548/CEE « *concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses* »⁽³⁾. Cette directive visait donc à harmoniser les règles de contrôle des substances dangereuses dans la communauté économique européenne. Au fil des années, elle a subi de nombreuses modifications appelées adaptations au progrès technique, jusqu'à son remplacement par le règlement REACH⁽⁴⁾.

Au passage, mentionnons qu'il existe également des réglementations européennes ou nationales sur des produits chimiques considérés par familles d'usages. Sans être exhaustif, citons les plus importantes catégories : les médicaments (à usage humain ou vétérinaire), les phytosanitaires (pesticides agricoles), les biocides (pesticides à usages non agricoles), les cosmétiques, etc. Notons qu'en dehors de la dernière catégorie citée ici, ces réglementations concernent des produits visant à présenter un effet biologique, alors que la Directive de 1967 vise toute substance, quels que soient ses usages, les propriétés dangereuses éventuelles n'étant pas intentionnelles. Parallèlement, le droit s'est intéressé à certains aspects particuliers du cycle de vie des produits chimiques ; citons : les installations classées et la prévention des accidents majeurs, les déchets, le commerce transfrontalier, les substances appauvrissant la couche d'ozone, les précurseurs d'armes chimiques ou de stupéfiants, le transport de marchandises dangereuses. Ce dernier domaine représente bien un type de sujet où une harmonisation mondiale permettrait de prendre en compte le caractère mondialisé de l'économie de ce XXI^e siècle. C'est l'objet du SGH, système global harmonisé, promu par l'Organisation des Nations unies et que certains pays ou ensembles de pays ont introduit dans leur réglementation. C'est ainsi que dans l'Union européenne existe désormais le règlement « CLP » pour la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances et mélanges⁽⁵⁾.

Comment définir le danger, le risque ?

Revenons à la Directive de 1967 : elle s'intéresse donc aux substances qualifiées de dangereuses. Comment définir celles-ci ? Les dangers dont il s'agit sont relatifs à des

propriétés physico-chimiques, toxicologiques ou environnementales. Ces propriétés sont listées par la réglementation et pour chacune d'entre elles, la substance doit faire l'objet d'investigations pour déterminer si elle doit être classée, et si oui, à quel niveau sur une échelle de gravité.

On cherche à déterminer si la substance est : explosive, comburante, inflammable, toxique, irritante, sensibilisante, cancérigène, mutagène, toxique pour la reproduction, dangereuse pour l'environnement. En fonction des résultats et du classement de danger défini, des dispositions appropriées sont adoptées en termes d'emballage et d'étiquetage de la substance (ou du mélange de substances, comme précisé dans la Directive 1999/45/CE dédiée aux « préparations dangereuses »).

Cependant, une approche basée uniquement sur le danger intrinsèque des substances n'est pas suffisante pour gérer convenablement les produits chimiques. En effet, si dans une situation accidentelle les propriétés dangereuses sont susceptibles de s'exprimer totalement, sur une échelle de temps réduite, ceci n'est pas représentatif des situations normales au cours desquelles la production, le transport et les usages de la substance s'effectuent dans des conditions où l'exposition des travailleurs, des consommateurs et de l'environnement est réduite et en principe maîtrisée. La réglementation européenne a donc évolué vers la fin des années 1980 vers une approche basée sur le risque, qui est la conjonction entre les dangers intrinsèques et les conditions d'exposition (niveau, fréquence, durée).

L'évaluation du risque a d'abord concerné les substances « nouvelles », puis les substances « existantes », à savoir celles qui avaient été répertoriées sur l'inventaire⁽⁶⁾ constitué en 1981 pour recenser les substances ayant pu avoir été mises sur le marché jusqu'à cette date. Cet inventaire dénombrant environ cent mille substances, un programme de travail focalisé sur des listes prioritaires fut alors entamé en 1993.

REACH : l'aboutissement

Une dizaine d'années plus tard, un bilan (Livre blanc⁽⁷⁾) mit en évidence le manque

d'efficacité du système, nécessitant un consensus des autorités compétentes des États membres de l'Union européenne, ce qui fut l'une des incitations à la révision de la réglementation européenne des produits chimiques, associée à la volonté de passer d'un régime de directives, nécessitant une transposition dans les droits nationaux, à un régime de règlements assurant une harmonisation sur tout le territoire européen du contenu et de la date d'entrée en vigueur des mesures adoptées. La directive de 1967 et ses nombreux textes modificatifs ont donc été remplacés par le règlement REACH⁽⁴⁾, adopté en décembre 2006, accompagné de la création de l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) à Helsinki, chargée d'en assurer un fonctionnement efficace. REACH est à ce jour la plus volumineuse pièce législative de l'Union européenne.

Le contenu des dossiers d'enregistrement reste dans le même esprit que celui des textes précédents :

- évaluation des dangers physico-chimiques, des dangers vis-à-vis de la santé humaine et de l'environnement ;



© European Chemicals Agency.

L'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) à Helsinki est l'interlocuteur de l'industrie pour l'enregistrement des dossiers.

- évaluation des différents scénarios d'exposition de l'homme et de l'environnement à chaque étape du cycle de vie de la substance ;
 - et évaluation du risque.
- Il faut noter des différences importantes toutefois :
- les usages pour lesquels la maîtrise du risque ne peut être démontrée ne sauraient être enregistrés ;
 - l'identification de substances de forte préoccupation (notamment les CMR et PBT/vPvB⁽⁸⁾) appelées à se voir substituées ;
 - la prise en compte de la nécessité de réduire le recours aux essais sur animaux vertébrés ;
 - l'« inversion de la charge de la preuve » : c'est désormais à l'industrie de démontrer que la substance chimique peut être produite et utilisée dans des conditions assurant la maîtrise des risques pour l'homme et l'environnement, alors qu'auparavant c'était un État membre de l'Union européenne qui était responsable de la conduite de l'évaluation des risques d'une substance.

Au niveau du fonctionnement, l'interlocuteur de l'industrie pour l'enregistrement des dossiers est, en premier ressort, l'ECHA.

Le dossier d'enregistrement

Concrètement, quelles sont les données qui doivent être rassemblées par les toxicologues dans un dossier d'enregistrement pour l'évaluation des propriétés de dangers des substances ?

La liste à fournir est d'autant plus importante que le tonnage produit ou importé par la société qui doit déposer le dossier est élevé. Ces propriétés sont listées dans quatre annexes du règlement (VII à X, voir *tableau*). Par exemple, pour les substances de plus de 1 000 tonnes par an, qui devaient être enregistrées à la date du 30 novembre 2010, toutes les données des annexes VII et VIII devaient être rassemblées (à l'exception des intermédiaires de synthèse utilisés dans des conditions strictement contrôlées bénéficiant d'enregistrements allégés), auxquelles s'ajoutaient les données éventuellement déjà disponibles parmi celles des annexes IX et X. La prochaine étape concerne les substances à plus de 100 t/an, à enregistrer d'ici fin mai 2013, pour lesquelles l'annexe X ne sera pas exigée. Enfin, la dernière vague d'enregistrements pour les tonnages compris entre 1 et 100 t/an, d'ici 2018, concernera les annexes VII et VIII.

Les sociétés préparant les dossiers d'enregistrement doivent recenser pour chaque propriété les données disponibles en interne ou publiées dans la littérature, en évaluer la pertinence et la qualité. Lorsque des données manquent, des études expérimentales doivent en principe être effectuées. Il est important de souligner que ces études, pour être acceptables, doivent suivre les méthodes décrites dans les lignes directrices de l'OCDE, et être réalisées par des laboratoires conformes aux bonnes pratiques de laboratoire (BPL). Le règlement REACH, dans le souci de limiter le recours à l'expérimentation animale, a prévu de pouvoir, dans des conditions fixées dans l'annexe XI, utiliser des approches non expérimentales : méthodes *in vitro*, méthodes *in silico* (relations

Le règlement REACH liste dans ses annexes VII à X les propriétés relatives aux substances qui doivent être examinées pour constituer un dossier d'enregistrement. Les données de l'annexe VII s'appliquent dès une quantité produite et/ou importée dans l'Union européenne de 1 t/an. Quand le tonnage atteint est de 10 t/an, les données listées dans l'annexe VIII s'ajoutent, celles de l'annexe IX à 100 t/an et enfin celles de l'annexe X pour 1 000 t/an et plus. À noter que pour les études sur vertébrés des annexes IX et X, une autorisation de les réaliser doit être obtenue auprès de l'ECHA qui en examine la nécessité (limitation des essais sur animaux de laboratoire).

Annexe	Physico-chimie	Toxicologie	Environnement
VII	Point de fusion/congélation Point d'ébullition Densité relative Pression de vapeur Tension superficielle Hydrosolubilité Coefficient de partage octanol/eau Point éclair Inflammabilité Propriétés explosives Température d'auto-inflammation Propriétés comburantes Granulométrie	Irritation/corrosion cutanée <i>in vitro</i> Irritation oculaire <i>in vitro</i> Sensibilisation cutanée Mutation bactériennes <i>in vitro</i> Toxicité aiguë voie orale	Toxicité aiguë sur invertébrés aquatiques Inhibition de croissance des algues Biodégradabilité facile
VIII		Irritation oculaire <i>in vitro</i> Génotoxicité : micronoyaux <i>in vitro</i> cellules de mammifères Génotoxicité : mutations <i>in vitro</i> cellules de mammifères Toxicité aiguë 2 ^e voie Toxicité répétée 28/90 jours Toxicité sur la reproduction Toxicocinétique	Toxicité aiguë sur poissons Inhibition de respiration de boues activées Hydrolyse en fonction du pH Adsorption/désorption
IX	Constante de dissociation Viscosité	Térogénicité Reprotoxicité deux générations	Toxicité à long terme sur invertébrés aquatiques Toxicité à long terme sur poissons Biodégradation en eau de surface Biodégradation dans les sols Biodégradation dans les sédiments Identification des produits de dégradation Bioaccumulation dans le poisson Toxicité aiguë pour invertébrés du sol Toxicité sur micro-organismes du sol Toxicité aiguë sur les plantes
X		Térogénicité 2 ^e espèce Reprotoxicité deux générations Mutagénicité <i>in vivo</i> Toxicité long terme (> 12 mois), cancérogénicité	Toxicité à long terme pour invertébrés du sol Toxicité à long terme sur les plantes Toxicité à long terme sur les organismes des sédiments Toxicité à long terme/reproduction pour les oiseaux

(quantitatives) structure-activité (Q)SAR), références croisées (analogies entre substances, regroupements), jugement d'expert (poids de l'évidence). Enfin, des dérogations à l'obtention de certaines propriétés peuvent être proposées lorsque la réalisation en est techniquement impossible ou qu'aucun scénario d'exposition ne permet d'anticiper la survenue du type d'effet concerné.

La priorité absolue donnée aux données obtenues selon les BPL et au moyen des méthodes standardisées décrites dans les lignes directrices de l'OCDE manifeste le souci du législateur de privilégier la reproductibilité des résultats qui doivent être interprétés au travers de grilles de classement et d'échelles de gravité des dangers, au prix sans doute d'une bonne représentativité de la réalité. La réglementation relative au contrôle des produits chimiques doit en effet assurer des règles communes, nécessaires afin que les utilisateurs et les gestionnaires privés et publics puissent fonder sur des critères robustes leurs décisions en matière de protection de la santé humaine et de l'environnement.

Ce système doit toutefois demeurer évolutif pour prendre en considération les préoccupations ou risques émergents (nanotechnologies, perturbateurs endocriniens, cocktails de substances...) et faire progresser les méthodes et critères selon des principes scientifiques robustes.

Notes

- (1) Décret du 15 octobre 1810 sur les manufactures et ateliers insalubres, incommodes ou dangereux, suivi de la Loi du 19 décembre 1917 (Source : *Dictionnaire permanent Environnement et Nuisances*, Éditions Législatives).

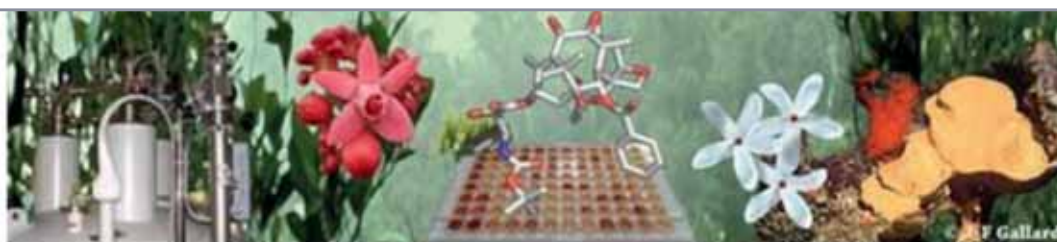
- (2) Source : *Dictionnaire permanent Environnement et Nuisances*, Éditions Législatives.
- (3) La Directive 67/548/CEE du 27 juin 1967 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses est disponible dans sa version consolidée sur le site EUR-Lex (<http://eur-lex.europa.eu/fr/index.htm>).
- (4) *Règlement REACH* : règlement 1907/2006 du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances et instituant une agence européenne des produits chimiques (ECHA). Acronyme de « registration, evaluation, authorization and restriction of chemicals ».
- (5) *Règlement CLP* : règlement 1272/2008 du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les Directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement REACH 1907/2006. Acronyme de « classification, labelling, packaging ».
- (6) Inventaire européen des substances chimiques commerciales existantes (EINECS).
- (7) *Livre blanc* : recueil d'informations destiné à un public déterminé pour l'amener à prendre une décision sur un sujet particulier (Wikipédia).
- (8) *Substances CMR* : substances cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction, en application de la Directive 67/548/CEE ; *Substances PBT* : substances persistantes, bio-accumulatives et toxiques, au sens de l'annexe XIII du règlement ; *Substances vPvB* : substances très (very) persistantes et très (very) bio-accumulatives au sens de l'annexe XIII du règlement.



Jean-Charles Boutonnet

est responsable du Département Toxicologie et Environnement chez Arkema*.

* Arkema France, Département Toxicologie et Environnement, 420 rue d'Estienne d'Orves, F-92705 Colombes Cedex.
Courriel : jean-charles.boutonnet@arkema.com



Institut de Chimie des Substances Naturelles

Créé en 1959, l'ICSN est un laboratoire propre du Centre National de la Recherche Scientifique, où 51 chercheurs, 67 ingénieurs et techniciens, 80 étudiants et post-doctorants assurent le développement des recherches portant sur la chimie des composés originaux des substances naturelles.

Situé au sein du Campus du CNRS à Gif-sur-Yvette, l'Institut dispose d'un des meilleurs parcs RMN et Spectrométrie de Masse d'Europe, d'un équipement de pointe pour le développement de méthodologies de synthèses et d'une unité pilote de purification et de fermentation.

Deux médicaments antitumoraux actuellement sur le marché international : la Navelbine® et le Taxotère® sont issus des recherches de l'Institut et développés respectivement par les Laboratoires Pierre Fabre et les Laboratoires Sanofi-Aventis.

**Pour tout renseignement, dons, legs... contacter : Professeur Max MALACRIA, Directeur
Institut de Chimie des Substances Naturelles**

CNRS
91198 Gif-sur-Yvette Cedex
Tél. : (33)1 69 82 30 89 - Fax : (33)1 69 07 77 52
E-mail : max.malacria@icsn.cnrs-gif.fr



L'évolution des besoins des industriels en matière de toxicologie

Jacques de Gerlache et Pascal Isnard

Résumé	Avec le développement industriel et la multiplication de l'usage de substances actives, naturelles ou synthétiques, thérapeutiques ou non, est apparue la nécessité d'en évaluer les dangers et les risques et d'en définir la sécurité d'usage, non seulement pour l'homme, mais aussi pour l'environnement. La toxicologie puis l'écotoxicologie se sont développées pour répondre à ces attentes. Aujourd'hui, l'approche est devenue très structurée et tente d'anticiper tous les effets potentiellement indésirables des agents chimiques. Après avoir évoqué brièvement les différents volets de cette approche et leur évolution avec les spécificités liées à chaque type de substances chimiques, l'article aborde les principaux domaines pour lesquels les méthodes actuelles présentent encore des limites ou des incertitudes : effets à très faible dose, effets des mélanges, nanomatériaux... Les pistes explorées pour y répondre et les besoins en la matière complètent ce panorama inévitablement un peu réducteur face à la complexité des enjeux.
Mots-clés	Toxicologie, industrie, réglementation, essais, tests, méthodes alternatives, perturbateurs endocriniens, nanomatériaux.
Abstract	The new expectations of industries in the field of toxicology With the industrial development and proliferation of the use of active substances, natural or synthetic, therapeutic or not, an increased need appeared to assess the hazards and risks and to determine the safety of their use, not only for humans but also for the environment. Toxicology and ecotoxicology have been developed to meet these expectations. Today, the approach has become very structured and tries to anticipate all potentially adverse effects. After briefly describing the various aspects of this approach and their evolution with respect to the specificities of each type of chemicals, key areas are addressed where current methods still have limitations or uncertainties: effects at very low doses, effects of mixtures, nanomaterials... The avenues explored to respond to needs in this area complete this review which is inevitably somewhat simplified given the complexity of the challenges.
Keywords	Toxicology, industry, regulation, assays, alternative methods, endocrine disruptors, nanomaterials.

Des poisons et des remèdes : historique

Les substances d'origine naturelle

Très tôt et dans toutes les cultures, les hommes ont pris conscience que certains produits, fabriqués par eux ou d'origine naturelle, pouvaient avoir des effets néfastes mais aussi bénéfiques sur l'organisme humain.

Plusieurs millénaires avant notre ère, les tribus primitives ont commencé à s'en servir pour enduire leurs outils de chasse afin d'accélérer et assurer la mort de leurs proies ou de leurs ennemis. L'histoire des poisons nous montre que dès l'Antiquité, des produits ont en effet été utilisés à des fins criminelles. Plusieurs exemples sont particulièrement célèbres, comme la mort de Socrate condamné à boire de la ciguë, l'empoisonnement de l'empereur romain Claude par des champignons vénéneux, ou encore ceux commis par son successeur Néron. Pline le Jeune a décrit plus de 7 000 poisons différents. Rome et la Grèce n'ont pas eu le monopole et de nombreux autres exemples sont connus dans d'autres pays comme en Inde ou en Égypte, sans parler de Catherine de Médicis ou des Borgia.

Parallèlement, les hommes ont cherché à se prémunir de ces empoisonnements au moyen d'antidotes. Un exemple fameux est celui de Mithridate VI, roi du Pont en Asie

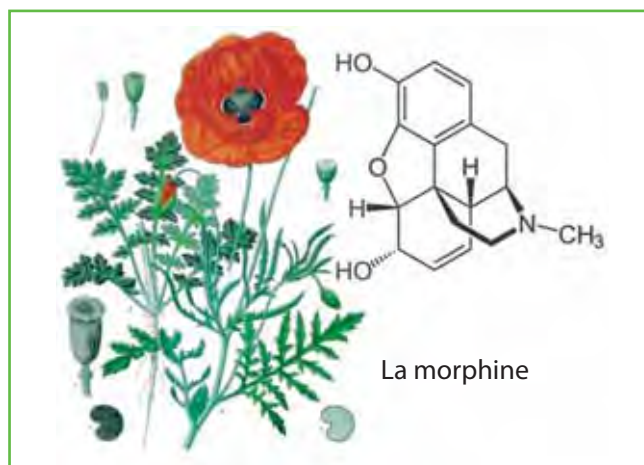
mineure, qui a cherché toute sa vie à atteindre une connaissance parfaite des poisons et antidotes de son époque. La légende rapporte qu'il absorbait régulièrement de petites doses de poison dans le but de s'immuniser, avec succès semble-t-il.

Au-delà des antidotes et depuis également très longtemps, les hommes ont utilisé des produits pour soulager leurs maux. Le plus ancien texte traitant de substances à des fins médicales serait un traité écrit par le médecin indien Sushruta au VII^e siècle av. J.-C., mais de nombreux autres textes ont été rédigés dès l'Antiquité en Égypte, en Grèce ou encore en Chine.

Ces produits ont d'abord été d'origine naturelle, extraits de plantes, de minéraux, voire d'animaux, et ce n'est finalement que relativement récemment que des premières molécules ont été identifiées puis synthétisées à des fins thérapeutiques.

Les substances issues de synthèse

La morphine est isolée à partir de végétaux en 1803 par Friedrich Adam Sattmer. Un peu plus tard, la salicine l'est à partir de l'écorce de saule, tandis que l'actuel principe actif correspondant, l'acide acétylsalicylique, sera synthétisé en 1853 par Charles Frédéric Gerhardt. À la fin du XIX^e siècle, une douzaine de produits de synthèse et une centaine de produits naturels sont considérés comme des médicaments. De nos jours, il en existe plusieurs centaines, essentiellement



synthétiques, même si de nombreux, tels les antibiotiques ou des anticancéreux, sont souvent dérivés de produits naturels.

Bien entendu, on ne parlait pas alors de produits chimiques puisque cette notion n'était pas connue. Pourtant, ce sont bien des molécules chimiques présentes dans des organismes naturels qui sont à l'origine de ces effets néfastes ou bénéfiques.

D'empirique au début, l'étude de ces effets désirables ou indésirables s'est peu à peu rationalisée pour se transformer en véritable science, avec d'un côté **la pharmacologie** qui s'intéresse plutôt aux effets bénéfiques des substances, et de l'autre **la toxicologie** qui se préoccupe d'identifier leurs effets néfastes ou indésirables sur la santé humaine (la toxicologie, *via* l'écotoxicologie, s'est élargie aux effets sur les autres organismes vivants).

Avec l'accroissement démographique et le développement industriel, une recherche systématique de plus en plus large de produits chimiques potentiellement thérapeutiques s'est développée en vue de contribuer à la fabrication de médicaments facilitant ou améliorant les conditions de vie. Cependant, parallèlement au fait que les industriels et, plus largement, l'ensemble des utilisateurs de produits chimiques se sont de plus en plus préoccupés des effets néfastes potentiels des produits chimiques qu'ils fabriquaient ou utilisaient, les autorités ont pris conscience de la nécessité d'évaluer plus rigoureusement les dangers liés à l'usage de ces produits et de maîtriser les risques correspondants. Des réglementations ont donc été progressivement édictées pour encadrer la vérification des effets désirables et secondaires et limiter l'utilisation de ces substances (l'absinthe ou la digitaline par exemple), suivies de règlements relatifs à leur production, leur mise sur le marché et leur usage.

L'émergence de la toxicologie : une réponse aux attentes croissantes en matière de sécurité sanitaire

L'émergence de la toxicologie a été progressive avec le développement de la connaissance des poisons, et plus généralement de l'alchimie puis de la chimie. On peut en particulier retenir le nom de Paracelse qui, dès le XVI^e siècle avec sa célèbre formule « *C'est la dose qui fait le poison* » est considéré comme le père de la toxicologie (bien que cette formule soit maintenant parfois remise en cause – voir par exemple plus loin la question des perturbateurs endocriniens).

Le fait est que toutes les molécules, qu'elles soient d'origine synthétique ou naturelle, sont susceptibles d'avoir des

effets néfastes sur la santé à certaines doses. Et c'est précisément à ce niveau que les attentes en matière de sécurité se sont faites plus explicites : plus d'efficacité, mais moins de risques !

Comme toutes les sciences, la toxicologie a donc évolué. C'est un champ pluridisciplinaire qui touche notamment à la chimie, la physiopathologie, la biochimie et l'épidémiologie, mais aussi aux sciences vétérinaires étant donné l'importance de l'expérimentation animale. Au début, les connaissances se concentraient sur des effets aigus facilement observables, notamment la mortalité (le cyanure ou la belladone par exemple), ou encore des effets d'irritation ou de corrosion. Des effets plus subtils ont aussi été mis en évidence, comme ceux provoqués par le mercure (la fameuse « maladie des chapeliers »), le plomb ou l'arsenic (notamment ceux observés sur le système nerveux central : maux de tête, nausées, vomissements, ébriété, somnolence, etc.), ou encore des phénomènes allergiques.

L'impact d'une exposition à plus long terme a ensuite été progressivement pris en compte avec le développement des essais sur animaux de laboratoire (rongeurs, lapins, chiens, singes, principalement) évaluant la toxicité (sub)chronique des substances. Des essais plus spécifiques ont alors été développés pour évaluer des propriétés plus particulières comme la cancérogénicité ou la génotoxicité des substances, les effets sur l'immunité et, en particulier après la catastrophe du « Sof-tenon » (thalidomide) au début des années 1960, les effets toxiques potentiels sur la reproduction et le développement.

En parallèle, et avec l'évolution des méthodes d'analyse, les simples observations macroscopiques sur l'organisme entier (poids, mortalité, consommation alimentaire...) ont été complétées par des analyses plus fines et plus détaillées. Elles portent sur les fluides biologiques (sang, urine), la microscopie des organes puis des cellules, et vont jusqu'à l'identification des mécanismes biochimiques, voire génétiques, à l'origine des effets observés.

Ont également été prises en compte dans ces études les différentes voies d'exposition possibles : ingestion, contact cutané, inhalation, voies d'exposition qui peuvent être volontaires ou passives, mais aussi des voies moins « naturelles » et plus « thérapeutiques » telles que les voies d'administration intraveineuses, sous-cutanées, intra-péritonéales, sans oublier d'autres voies plus spécifiques (rectales, vaginales par exemple).

Pour tous ces effets, ces durées et voies d'exposition, des méthodes d'essai ont été développées et souvent normalisées afin d'obtenir des résultats comparables et trouver leur place dans l'arsenal réglementaire.

Enfin, dans les années 1970, on a aussi commencé à analyser en détail les mécanismes par lesquels l'organisme transforme et élimine les substances chimiques et les médicaments. On s'est rendu compte en effet que ces processus dits de « métabolisme » étaient très importants (notamment au niveau du foie), variables d'espèce à espèce, de sujet à sujet, mais aussi que certaines molécules, inoffensives par elles-mêmes, comme le benzène par exemple, pouvaient être transformées en substance toxique, voire cancérogène, au sein même de l'organisme.

Parallèlement aux efforts entrepris pour mieux comprendre les effets néfastes des produits chimiques sur les êtres humains, suite notamment à la publication en 1962 du livre de Rachel Carson, *Le Printemps silencieux*, toute une discipline nouvelle a émergé à partir des années 60, destinée à évaluer les effets indésirables des produits chimiques sur les bactéries, les plantes et les animaux.

La constitution des dossiers réglementaires

Une préoccupation majeure des industriels est de mettre sur le marché des substances qui offrent toutes les garanties raisonnables de sécurité quant à leur utilisation. Et celles-ci peuvent être très variables selon qu'il s'agit d'un produit de confort ou de consommation courante, ou alors d'un médicament ou d'un pesticide, substances qui, par nature, doivent exercer une certaine activité et présentent donc potentiellement des effets indésirables dans certaines conditions d'exposition ou d'utilisation. À cet effet, un dossier très complet et très rigoureux doit être constitué et présenté aux autorités compétentes. Il reprend l'ensemble des résultats des tests qui ont été menés selon des protocoles standardisés rigoureux. Ce dossier doit également comprendre un volet concernant les effets potentiels des substances sur l'environnement.

À partir d'un certain tonnage, et sauf exemptions (les polymères par exemple), les produits chimiques doivent maintenant avoir fait l'objet d'un dossier d'enregistrement auprès des autorités européennes avant de pouvoir être produits, importés et/ou mis sur le marché. Certains, s'ils sont classés comme « substances hautement préoccupantes » (SVHC, « substances of very high concern »), seront soumis à une autorisation spécifique qui sera réévaluée périodiquement.

L'obtention d'une telle autorisation de mise sur le marché est par ailleurs systématique pour les médicaments et les produits phytosanitaires (« pesticides »). Pour ce qui est des produits naturels, notamment des constituants de produits cosmétiques ou alimentaires, les exigences réglementaires sont différentes et restent actuellement moins élevées en ce qui concerne la réalisation systématique de tests (éco)toxicologiques.

Les réglementations visent donc d'abord à une meilleure connaissance des effets néfastes potentiels des produits (propriétés dangereuses intrinsèques). Les risques liés à ces propriétés dépendent du niveau d'exposition à ces produits, et donc des quantités produites et du type d'usage prévu avec, comme principe général, que plus la probabilité d'exposition pour l'homme est élevée, plus la complexité des dossiers sera grande. Il est évidemment encore plus important de bien connaître les effets potentiels et les risques des produits délibérément administrés à l'homme (médicaments, additifs alimentaires par exemple) ou disséminés en larges quantités dans l'environnement (produits phytosanitaires) que ceux des réactifs de laboratoire utilisés en faibles quantités ou des intermédiaires de fabrication ne quittant pas les usines et manipulés par du personnel bien formé et bien protégé.

En Europe, ces réglementations sont essentiellement définies au niveau de l'Union et concernent quasiment tous les produits de synthèse : produits chimiques en général, médicaments, produits cosmétiques, produits phytosanitaires et biocides...

Les produits chimiques

Le premier texte réglementaire de l'Union européenne dans le domaine des produits chimiques a maintenant 45 ans avec la Directive 67/548/CEE du Conseil du 27 juin 1967 concernant « le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses. » Elle a été maintes fois mise à jour et étendue aux préparations (mélanges de substances) et suivie de beaucoup d'autres.



Les points fondamentaux de ces textes sont :

- la mise en place d'un système de classification et d'étiquetage des produits chimiques, avec notamment les pictogrammes de danger présentant des symboles noirs sur un fond carré orange (ceux-ci étant en cours de remplacement par de nouveaux pictogrammes – losanges – uniformisés au niveau mondial) ;
- l'obligation d'accompagner le produit d'une fiche de données de sécurité (« FDS ») normalisée, rédigée à l'usage des professionnels et décrivant notamment les différentes propriétés du produit et des recommandations d'usage ou en cas d'accident ;
- l'obligation de réaliser pour la mise sur le marché de nouvelles substances et en fonction du tonnage produit un dossier dit « de notification », comprenant de nombreuses études de caractérisation physico-chimique, de toxicité, mais aussi écotoxicologiques.

Cet ensemble de textes réglementaires a maintenant été remplacé, d'une part par le règlement REACH, et d'autre part par le règlement CLP.

Le règlement REACH⁽¹⁾ a repris les principes de la Directive 67/548 et d'autres documents réglementaires (une quarantaine en tout) en élargissant leurs domaines d'application à l'ensemble des produits chimiques fabriqués (même non mis sur le marché européen) ou importés en Europe et donc utilisés. Il conserve le principe de l'établissement d'un dossier dit d'enregistrement qui est à présent plus complet. Il impose aussi l'obligation de présenter une étude des risques pour l'homme et pour l'environnement en fonction des principaux usages prévus pour la substance. Toutes les substances, neuves ou existantes, doivent être (ré)enregistrées selon les critères du règlement REACH en fonction d'un calendrier s'étalant sur sept ans. C'est une réglementation extrêmement complexe et largement traitée dans l'article de Jean-Charles Boutonnet (voir p. 68). Le coût d'établissement de tels dossiers est important, et pour des substances produites ou utilisées en faible volume, cela peut mener à leur retrait du marché alors même que leur utilité peut être grande, voire même indispensable à certaines applications et qu'elles ne présentent pas nécessairement de risque particulier.

Le règlement CLP⁽²⁾, lui, a consisté à refondre le système de classification, d'étiquetage et d'emballage des substances chimiques, en transcrivant en droit européen le système de prescription SGH⁽³⁾ développé au niveau mondial par les Nations unies. Les principes sont cependant restés les mêmes, les différences résidant plutôt dans les critères d'interprétation des études (par exemple les seuils de toxicité aiguë imposant une classification d'une substance) et leur communication, avec notamment le remplacement des anciens pictogrammes carrés sur fond orange bien connus par des losanges blancs à liseré rouge.

Le règlement CLP régit donc l'utilisation des résultats des études de toxicité (mais aussi des paramètres physico-chimiques et écotoxicologiques) et la communication aux usagers de cette interprétation selon la classification adoptée, mais elle n'impose pas la réalisation de ces études, ce qui est du ressort du règlement REACH (et d'autres réglementations spécifiques décrites ci-après).

Les médicaments

En France, la première réglementation sur les médicaments et les produits pharmaceutiques date de la fin de la Seconde Guerre mondiale. La Commission d'autorisation de mise sur le marché (AMM) a quant à elle été instituée en 1959 ; elle est maintenant essentiellement régie par les exigences de la Directive européenne 2001/83 et du Règlement européen 726/2004.

Le développement d'un médicament est un processus très long (environ une dizaine d'années à l'heure actuelle) qui se déroule en trois grandes étapes. La première consiste à identifier des molécules susceptibles d'avoir un intérêt thérapeutique en utilisant des méthodes complémentaires : *in silico* (i.e. sur ordinateur) tout d'abord, par comparaison avec des substances existantes, *in vitro* ensuite (réactions biochimiques, cultures de cellules), puis enfin *in vivo*, c'est-à-dire en vérifiant la réalité des effets pharmacologiques sur des animaux de laboratoire. Une fois identifiée, une molécule intéressante fait l'objet d'études précliniques qui constituent la deuxième grande étape du développement d'un médicament. Ces études visent à identifier des effets secondaires et toxiques potentiels de la substance et à vérifier qu'ils sont observés à des doses supérieures à celles conduisant à un ou des effets pharmacologiques positifs, ou tout du moins qu'à ces doses, les effets indésirables sont acceptables par rapport à l'effet thérapeutique recherché. La troisième étape du développement consiste à réaliser des études cliniques en vérifiant chez l'homme l'intérêt thérapeutique par rapport à des substances existantes ainsi que la tolérance du médicament.

C'est au stade préclinique que la toxicologie intervient par le biais d'études des effets des substances testées, à court terme mais aussi et surtout à long terme, et selon leur domaine thérapeutique. Compte tenu du fait qu'elles sont destinées à être administrées directement au patient (du moins pour les médicaments à usage humain), les dossiers sont plus détaillés que pour les produits chimiques. Ainsi à titre d'exemple, et hormis quelques exceptions, des études de toxicité sur la reproduction et des études de cancérogénicité sont obligatoires pour les médicaments, alors que pour les produits chimiques, elles ne sont imposées que pour celles produites ou utilisées à de larges tonnages.

Les cosmétiques

Les produits cosmétiques font également l'objet d'une réglementation spécifique visant à s'assurer qu'ils sont sans danger pour la santé humaine dans des conditions normales ou prévisibles d'utilisation. Elle précise des substances interdites dans la composition des produits commerciaux, ainsi qu'une liste de colorants, agents conservateurs et filtres UV autorisés.

Un point particulier important est l'accent mis sur l'interdiction de l'expérimentation animale : les produits cosmétiques finis et leurs ingrédients ne peuvent plus être testés sur les animaux vertébrés (interdiction de l'expérimentation). Il est

également interdit de commercialiser des produits ayant été testés sur des animaux vertébrés ou qui contiennent des ingrédients testés sur animaux vertébrés (interdiction de mise sur le marché).

Les produits phytosanitaires

De façon analogue, les substances destinées à la protection des plantes (produits phytopharmaceutiques) ne peuvent être mises sur le marché et utilisées que si elles disposent d'une autorisation de mise sur le marché (AMM). Pour cela, la substance active entrant dans la composition d'un produit doit à présent être approuvée au niveau de l'Union européenne ; les exigences à remplir sont définies par la Directive 91/414/CEE remplacée depuis le 14 juin 2011 par le Règlement 1107/2009/CE. En France, c'est l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) qui est en charge de l'évaluation des risques et des bénéfices (intérêt agronomique) des produits phytopharmaceutiques. Sur la base de l'avis de l'ANSES, la décision finale de délivrer l'AMM revient au Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt. L'AMM est délivrée pour des usages précis, avec des conditions strictes d'emploi.

Les biocides

Un peu plus récemment, une réglementation similaire a été mise en place pour les produits biocides (Directive 98/8/CE et Règlements suivants). Un biocide est défini comme une substance active destinée à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles dans les secteurs non agricoles. Cela regroupe un ensemble de plus d'une vingtaine de familles, allant de produits pour l'hygiène humaine ou animale à des produits d'embaumement ou de désinfection, en passant par des produits de conservation du bois. Leur mise sur le marché est, là encore, soumise à l'acceptation d'un dossier qui comprend, entre autres, une série de données toxicologiques (toxicité aiguë et chronique, irritation, sensibilisation, propriétés CMR⁽⁴⁾, etc.) sur les matières actives, mais aussi sur les préparations (mélanges de produits) elles-mêmes. Suite à la mise en place de cette réglementation européenne, tous les biocides ont dû progressivement être réenregistrés (avec parfois les mêmes obstacles financiers que pour les produits chimiques quand il s'agissait de produits à faible marché).

Les autres enjeux en matière (éco)toxicologique

Les enjeux analytiques

Aujourd'hui, même si des effets adverses, néfastes pour la santé humaine, sont mis en évidence au laboratoire pour de nombreux produits chimiques, ceux-ci sont généralement observés à des doses/concentrations bien supérieures à celles observées dans notre environnement.

Le développement des méthodes analytiques montrent actuellement la présence dans l'environnement de nombreux produits chimiques d'origine naturelle ou anthropique, mais à des teneurs le plus souvent extrêmement faibles. À titre d'exemple, lorsque les premiers textes sur la qualité des eaux ont été publiés, les valeurs limites étaient de l'ordre du

ppm (mg/L), c'est-à-dire du même ordre de grandeur de ce que permettaient d'atteindre les méthodes analytiques. Aujourd'hui, selon les produits, on peut descendre en dessous du ng/L, soit une limite au moins un million de fois inférieure. Dans ces conditions, il n'est pas étonnant que l'on détecte de plus en plus de molécules chimiques. On ne peut d'ailleurs pas affirmer que ces molécules n'étaient pas déjà présentes avant, même s'il est vraisemblable que la croissance économique ait également contribué à accroître la présence de molécules d'origine anthropique dans notre environnement.

Faudrait-il pour autant que les limites admissibles soient basées sur le niveau de détection plutôt que sur le seuil de la concentration démontré sans effet ? C'est le sujet d'un débat permanent entre les partisans d'une gestion raisonnée et proportionnée des risques sanitaires ou environnementaux et ceux qui vont au-delà même de l'application du principe de précaution. L'application de ce principe suppose en effet, d'une part l'existence d'un risque potentiel significatif, même si formellement il n'est pas totalement démontré, et d'autre part un équilibre dans son application, avec un principe de proportionnalité, tout aussi important.

L'identification exhaustive des propriétés indésirables

Les batteries de tests destinés à évaluer les propriétés potentiellement dangereuses des produits chimiques et/ou pharmaceutiques se sont multipliées ces dernières décennies. Il suffit pour cela de consulter les listes de tests normalisés et adoptés par différentes instances internationales, telles les lignes de conduite des épreuves (tests) toxicologiques de l'Organisation internationale de normalisation (ISO) ou de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE)⁽⁵⁾, ou encore celles de l'Union européenne.

L'identification de nouvelles techniques et la compréhension récente de certains effets biologiques permettent cependant de développer des tests plus prédictifs et, si possible, qui réduisent au maximum le recours à l'expérimentation animale en respectant la règle des « 3 R » : remplacer, réduire et raffiner. Le développement de nouveaux types de molécules impose aussi de se poser la question de l'identification d'effets qui échapperaient aux tests de toxicologie classiques. L'industrie chimique et pharmaceutique est donc en permanence à la recherche de tests permettant d'appliquer au mieux la règle des 3 R, mais en réalisant aussi que la complexité même des phénomènes biologiques rend aléatoire la possibilité de pouvoir un jour substituer complètement le recours à l'animal d'expérience. Pour prendre une comparaison triviale, imaginerait-on proposer une recette culinaire recourant à de nouveaux ingrédients sans jamais l'avoir goûtée ?

Par ailleurs, depuis de nombreuses décennies, certaines questions restent sans réponse totalement satisfaisante. Malgré le fait que des études menées sur des animaux de laboratoire, parfois sur plusieurs générations, ne montrent aucun effet indésirable, il reste possible que certains effets subtils ne soient pas facilement détectés. Ainsi les modulations hormonales ou autres, même à très faible dose, pourraient perturber le développement fœtal et avoir des conséquences à long terme difficilement objectivables sur un petit nombre d'animaux. Ces risques de perturbation hormonale font partie de ces effets potentiels qui retiennent l'attention. Face à la difficulté jusqu'à présent d'objectiver leur réalité dans des conditions réalistes d'exposition, le

développement de nouveaux tests spécifiques reste souhaitable.

La question des effets « cocktails »

Un autre cas est celui des effets potentiels résultant de l'exposition à des mélanges (« cocktails ») de substances différentes parmi les milliers de substances, naturelles ou synthétiques, présentes dans notre environnement. Ces effets ne semblent cependant pas aussi importants que certains le craignent. Malgré les nombreuses études réalisées depuis une vingtaine d'années sur ce sujet, les preuves de tels effets à faible dose restent limitées à des associations en général déjà bien identifiées (amiante et tabac par exemple). Plusieurs études approfondies de la littérature mondiale réalisées ces dernières années par des organismes internationaux en témoignent⁽⁶⁾. Il n'en reste pas moins que, là aussi, les industriels et les toxicologues souhaiteraient avoir à leur disposition des tests plus spécifiques leur permettant d'obtenir plus d'assurance à ce sujet.

Le screening toxicologique des produits

En amont des dossiers réglementaires, les industriels souhaitent encore compléter la batterie de moyens toxicologiques leur permettant de mieux anticiper d'éventuels effets indésirables qui amèneraient de toute façon à une interdiction ou une restriction d'usage des produits concernés.

Dans la mesure où, dans la plupart des cas, de très nombreuses substances doivent être testées avant d'en identifier une dont les propriétés soient suffisamment intéressantes pour être mise sur le marché, il est nécessaire que ces essais soient les plus simples et les moins coûteux possibles, tout en restant représentatifs des réalités biologiques et des tests réglementaires.

Plusieurs voies sont possibles :

- Une première voie est de partir d'un test existant en tentant de simplifier son protocole, par exemple en réduisant le nombre d'animaux testés ou celui des doses, et en ne l'effectuant pas nécessairement en respectant toutes les prescriptions imposées par les « Bonnes pratiques de laboratoire » (BPL). Dans ce cas, le test « complet » n'est effectué que si le test simplifié décèle des effets potentiels.

Un exemple simple est celui de la toxicité aiguë où les anciens protocoles exigeaient une large gamme de doses pour pouvoir tracer une courbe dose-effet en « log-probit » et déterminer la dose létale pour 50 % des animaux traités (DL50) de façon relativement précise. Aujourd'hui, on ne teste plus qu'aux doses seuils élevées de la réglementation selon une approche successive, ce qui permet de réduire considérablement le nombre d'animaux utilisés.

- Une deuxième voie est de tenter de passer d'un essai *in vivo* à un essai *in vitro*, ce qui permet là encore de rencontrer l'attente éthique de réduction du nombre d'animaux de laboratoire.

L'exemple le plus notable est celui des tests d'irritation/corrosion qui utilisaient précédemment des animaux, notamment des lapins, alors qu'ils sont maintenant pratiquement complètement remplacés par des essais alternatifs soit sur des tissus issus d'animaux récemment décédés (par exemple des yeux d'animaux fraîchement récupérés en abattoirs), soit sur des tissus reconstitués en culture en laboratoire (par exemple des cultures de peau humaine reconstituée).

- Une troisième voie consiste à rechercher des (bio)indicateurs simples capables de prédire un effet ne pouvant être

mis en évidence que par des essais expérimentaux complexes et de longue durée. Ainsi des tests de génotoxicité *in vitro*, dont le plus connu est celui d'Ames, sont utilisés pour prédire les risques de cancérogénicité, effet qui ne peut être identifié que par des études très longues (deux ans chez le rat et 18 mois chez la souris) et donc très coûteuses. A *contrario*, les résultats de ces essais doivent être interprétés avec précaution. Ainsi, certaines substances qui apparaissent comme positives dans certains des tests pourraient ne pas présenter de risque de cancer en conditions réelles. De ce fait, certaines substances, par ailleurs très intéressantes, pourraient ainsi ne jamais voir le jour parce qu'un test simplifié a rendu le développement du produit trop aléatoire et risqué sur le plan toxicologique et financier.

La protection des opérateurs

L'une des responsabilités des industriels est d'assurer la protection de leurs opérateurs. Aussi, même indépendamment des obligations réglementaires, de nombreuses sociétés réalisent des essais pour avoir un minimum de connaissance des effets toxiques potentiels des produits qu'ils manipulent afin de prendre les mesures de protection les plus adaptées.

Les méthodologies choisies peuvent varier d'une société à l'autre, mais l'idée générale est de définir un niveau de danger pouvant aller jusqu'à la détermination de valeurs limites d'exposition professionnelle internes. Les moyens de protection seront alors définis en fonction de ce danger et du niveau de risque d'exposition et des opérations effectuées.

Cela peut amener à des choix car il n'est pas forcément nécessaire de connaître parfaitement les dangers du produit. On peut décider de ne pas tester le produit et de le considérer *a priori* comme très dangereux si le coût des moyens de protection est inférieur au coût des tests à réaliser.

Ainsi au laboratoire, où de faibles quantités sont manipulées, il est assez aisé de prendre beaucoup de précautions, et donc pas forcément indispensable de réaliser de nombreux tests sur le produit. D'autant que l'on ne dispose souvent pas des quantités de produit nécessaires pour réaliser ces tests. À l'inverse, au niveau industriel, où la mise en place d'un niveau de protection élevé est généralement coûteux, il sera souvent utile de connaître au mieux les propriétés de danger des produits afin d'optimiser ces moyens de protection.

Comme dans le cas du screening de produits, l'usage de méthodes aussi simples que possible est recherché et leur développement est un enjeu majeur pour l'industriel.

Les sujets émergents/sociétaux

Les méthodes *in silico* (QSAR)

Une méthode *in silico* est une méthode d'analyse informatisée d'évaluation de la toxicité des produits chimiques. Elle implique l'utilisation de bases de données expérimentales existantes sur la toxicité des produits chimiques. Elles sont alors utilisées, à l'aide d'un logiciel approprié, pour prédire la toxicité de produits chimiques similaires à ceux déjà testés. L'avantage de cette approche est de permettre d'évaluer la toxicité d'un grand nombre de produits chimiques rapidement, sans recourir à des essais toxicologiques longs et



coûteux. La principale limite est la quantité de données existantes disponibles, car certaines sont peu accessibles et, dans certains domaines (tels que la toxicité à long terme chez les mammifères), la quantité de données existantes de haute qualité est limitée (la masse de données toxicologiques imposées par le règlement REACH devrait toutefois contribuer à atténuer cette difficulté). Une autre limite est liée au fait que l'on passe par des modèles et donc, inévitablement, par des approximations par rapport à la réalité.

Le règlement REACH prévoit l'utilisation de méthodes alternatives *in silico* telles que les « relations qualitatives ou quantitatives structure-activité » (RQSA, en anglais QSAR : « quantitative structure-activity relationship ») et les références croisées. L'annexe XI du règlement précise que les résultats obtenus à partir de modèles validés de relations qualitatives ou quantitatives structure-activité peuvent être utilisés comme alternative aux essais toxicologiques lorsque les conditions suivantes sont remplies :

- les résultats sont issus d'un modèle RQSA dont la validité scientifique a été établie ;
- la substance relève du domaine d'applicabilité du modèle RQSA ;
- les résultats conviennent pour la classification et l'étiquetage (CLP) et/ou pour l'évaluation des risques ;
- une description suffisante et fiable de la méthode appliquée est fournie.

L'Agence européenne des produits chimiques (ECHA), en collaboration avec la Commission, les États membres et les parties intéressées, doit développer et fournir des orientations permettant d'évaluer quels modèles RQSA satisfont à ces conditions et fournir des exemples.

Ces principes sont également énoncés par l'OCDE qui impose aussi de spécifier certaines caractéristiques du modèle RQSA afin d'évaluer sa fiabilité, notamment les caractéristiques statistiques du modèle lui-même et ses propriétés prédictives.

Pour aider à répondre à ces besoins, le Joint Research Centre (JRC) de l'Union européenne développe une base de données de modèles RQSA librement accessible sur leur site Internet⁽⁷⁾. Une brochure en français introductive aux RQSA et une formation sont également disponibles en ligne⁽⁸⁾.

Compte tenu des gains potentiels en termes de coût et de nombre d'animaux utilisés, il faut espérer que la fiabilité de ces méthodes s'améliorera et permettra un usage de plus en plus sûr, notamment dans les applications de screening évoquées précédemment.

Les méthodes alternatives à l'expérimentation animale (in vitro/ex vitro)

Jusqu'à ce jour, les agences réglementaires ont généralement pris en compte la plupart des avancées scientifiques en modifiant les tests de toxicité d'origine animale ou par l'adjonction de nouveaux essais tels que des études sur animaux plus jeunes ou plus petits ou l'exposition des portées des mères exposées à une substance toxique. Cette approche a conduit à des méthodes longues et onéreuses utilisant un grand nombre d'animaux. Cela a contribué au fait que de nombreuses substances potentiellement toxiques n'ont pas été testées du tout, alors même que d'autres substances ont fait l'objet de recherches importantes et minutieuses durant des décennies.

Un rapport publié par le National Research Council aux États-Unis⁽⁹⁾ envisage un nouveau système de tests de toxicité reposant essentiellement sur la compréhension des voies de toxicité et des réponses cellulaires qui pourraient entraîner des effets néfastes pour la santé au-delà d'un certain seuil. Un tel système permettrait d'évaluer les altérations biologiques importantes sans devoir s'appuyer sur des études sur animaux vivants.

Une modélisation dose-réponse et son extrapolation devrait permettre de traduire les observations cellulaires au niveau de l'organisme humain tout entier. Plus précisément, on devrait pouvoir estimer le niveau d'exposition conduisant à des perturbations importantes telles que celles observées dans les tests cellulaires.

Des données d'exposition basées sur la population humaine sont également des éléments clés qui doivent être intégrés dans cette approche, notamment des données de « bio-surveillance », telles que des mesures de concentration de produits chimiques présents dans le sang, les cheveux ou d'autres tissus. Avec le développement de ces nouveaux tests et des connaissances, d'autres marqueurs d'exposition humaine ou d'autres effets sur la santé et la susceptibilité (sensibilité) individuelle pourraient être identifiés. Ils pourraient contribuer à mieux répondre à la préoccupation liée à la présence de substances chimiques dans l'environnement.

Le rapport met l'accent sur l'importance du contexte des évaluations des risques, c'est-à-dire le choix des scénarios d'exposition, pour les substances sur lesquelles les essais de toxicité sont menés.

Pour faire progresser la science dans ce domaine, il est souhaitable de favoriser les recherches interdisciplinaires qui seront nécessaires pour réaliser ce projet. Il y aurait beaucoup moins de chances de succès dans un délai raisonnable si ces recherches restaient dispersées dans différents laboratoires et organisations sans une institution centrale.

Faire progresser la science est d'autant plus important que malheureusement, il n'y a aujourd'hui que peu de méthodes alternatives validées, et on voit mal comment on pourrait se passer à court terme des tests sur animaux, en particulier concernant la toxicité chronique.

Quoiqu'il en soit, comme pour les méthodes *in silico*, le développement de ces méthodes est à encourager afin qu'elles puissent peu à peu se substituer aux classiques méthodes *in vivo*. C'est évidemment particulièrement important lorsque le recours à l'expérimentation animale est interdit, comme dans le cas des produits cosmétiques.

Les perturbateurs endocriniens

La présence de substances pouvant être considérées comme des perturbateurs endocriniens⁽¹⁰⁾ dans notre environnement suscite des inquiétudes pour les raisons suivantes :

- des effets indésirables ont été observés sur la reproduction, la croissance et le développement de certaines espèces sauvages, aussi bien aquatiques que terrestres ;
- certaines études ont rapporté une augmentation de la fréquence de certains troubles du système reproducteur et de la prévalence de certains cancers chez l'homme, ce qui, parmi les hypothèses envisagées, pourrait être lié à la perturbation du système endocrinien ;
- certaines substances présentes dans l'environnement produisant des effets sur le système endocrinien provoquent des effets indésirables sur des animaux de laboratoire.

Pour aborder et évaluer les problèmes liés aux perturbateurs endocriniens, de nombreuses organisations nationales et internationales, ainsi que des scientifiques et des groupes d'intérêt public, ont lancé des programmes de recherche, organisé des conférences et constitué des groupes de travail et des panels d'experts.

Les rapports sur les effets à faible dose sur les animaux de laboratoire sont très controversés et font l'objet de recherches intensives. Les résultats sont difficilement reproductibles malgré l'utilisation des mêmes doses. Toute la question est de savoir si les méthodes d'essai traditionnelles sont suffisamment robustes pour révéler des effets endocriniens à faible dose. De nombreux travaux ont tenté de progresser dans ce domaine et de proposer des schémas expérimentaux plus spécifiques.

L'Agence de protection de l'environnement américaine (EPA) a ainsi proposé en 2009 une première batterie de tests pour évaluer le potentiel de perturbation endocrinienne des pesticides et envisage des décisions et éventuellement des tests additionnels si cela était nécessaire. De son côté, l'OCDE a donné une grande priorité au développement de lignes de conduite pour la détection des substances chimiques ayant un potentiel de perturbation endocrinienne à la fois pour l'homme et pour l'environnement⁽¹¹⁾.

Les questions essentielles sont de savoir si les tests classiques existants sont suffisants pour détecter les effets liés aux perturbateurs endocriniens et s'il existe un seuil pour ces effets car :

- des études ont montré que certains processus hormonaux pouvaient s'exercer à des concentrations particulièrement faibles ;
- les perturbateurs endocriniens d'origine exogène sont généralement beaucoup moins actifs que les hormones naturelles ;
- les effets de perturbateurs endocriniens venant se combiner à celui des hormones naturelles, une exposition à de faibles doses de tels perturbateurs endocriniens pourrait entraîner des effets mesurables.

À défaut de preuve contraire à ce jour, il est souvent admis qu'il n'y aurait pas de valeur seuil pour l'action des perturbateurs endocriniens, toute exposition, même faible, pouvant produire des effets, indésirables ou non. Cela reste une question ouverte.

La période d'exposition est aussi un facteur important et il semble que l'organisme des animaux et des humains soit plus sensible aux perturbateurs endocriniens lors de certains stades de la vie :

- au cours des stades précoces du développement du système endocrinien, comme dans l'utérus ou pendant les premiers stades de la vie néonatale, l'exposition à des perturbateurs endocriniens peut altérer de façon permanente le fonctionnement de celui-ci ou sa sensibilité vis-à-vis de stimuli ou d'inhibition ;
- *a contrario*, l'exposition à l'âge adulte peut ne provoquer aucun changement significatif ou détectable, la faculté d'adaptation physiologique de l'organisme étant *a priori* plus grande (ce qui est le cas des travailleurs adultes et en bonne santé).

De ce fait, les mêmes niveaux d'exposition à un signal endocrine, naturel, voire perturbateur, peuvent provoquer des effets différents selon les stades de la vie, voire les saisons.

Les protocoles d'essai réglementaires classiques ne permettent pas dans la plupart des cas de détecter un effet spécifiquement perturbateur endocrinien. Ils permettent néanmoins, et en particulier les tests d'exposition chronique ou de détection des effets sur la reproduction, de détecter les principaux effets sur la santé ou l'environnement des substances chimiques que de telles molécules pourraient provoquer.

Ces problématiques rendent difficiles l'évaluation et la gestion des risques liés aux perturbateurs endocriniens. L'industrie se base généralement sur une approche similaire à celle préconisée par les dispositions réglementaires sur les substances CMR :

- la prévention repose d'abord sur la suppression du risque et la substitution ;
- à défaut, les activités potentiellement exposantes sont l'objet d'une évaluation approfondie des risques qui conduit à adapter les moyens de protection collectifs et, le cas échéant, individuels ;
- la formation et l'information des opérateurs sont fondamentales, ainsi que l'organisation de la traçabilité des expositions.

Au-delà, de nombreux travaux (EPA, Union européenne, OCDE) sont par ailleurs toujours en cours, destinés à mettre au point et à valider une série de tests complémentaires plus spécifiques qui complèteraient la gamme des tests standards : études dites « apicales » identifiant les effets potentiels indésirables et préoccupant du point de vue toxicité endocrine, ainsi que des études complémentaires, plus mécanistiques et de screening ciblé, donnant aussi des indications sur le mode d'action.

Les initiatives visant à améliorer la compréhension des mécanismes d'action de perturbateurs endocriniens sont à encourager. Dans ce cadre, l'industrie finance un nombre important de projets au travers du programme LRI⁽¹²⁾, en particulier en matière de développement de méthodes de tests destinés à identifier les effets de perturbation endocrinienne⁽¹³⁾.

Les nanomatériaux

Les nanomatériaux sont un autre sujet d'actualité, Il en existe une grande variété et plusieurs études ont suggéré que les propriétés d'un produit à l'état nanoparticulaire peuvent être très spécifiques et très différentes de celles observées classiquement avec le même produit sous forme

classique. Chaque type de nanomatériau ou nanoparticule doit donc être considéré individuellement.

En ce qui concerne la toxicologie⁽¹⁴⁾, les méthodes d'évaluation de leurs propriétés dangereuses potentielles et les réglementations en vigueur sont applicables de façon variable. Une difficulté majeure réside dans la mesure de l'exposition car la plupart des méthodes de caractérisation physico-chimique sont à adapter, voire à réinventer.

Les effets dangereux potentiels de nanoparticules généralement identifiés concernent des pathologies par ailleurs largement répandues dans la population (cardiovasculaires, pulmonaires, inflammations) et il existe de multiples cofacteurs non professionnels.

L'exposition aux nanomatériaux peut exister par contact avec le milieu ambiant, ceux-ci pouvant alors être aussi des nanovecteurs de contaminants divers. Leur potentiel toxique est donc lié à leurs caractéristiques intrinsèques, mais les risques réels dépendent des facteurs d'environnement et des conditions de mise en œuvre.

Dans le cadre du règlement REACH, un volet spécifiquement « nano » est-il donc nécessaire ? La discussion tourne déjà autour de leur identification : sur quelle base ? (quelle définition ?). Faut-il envisager un étiquetage spécial « nano » et à quels seuils de quantités produites ? Etc.

La maîtrise des risques liés aux nanomatériaux doit être basée sur une évaluation au cas par cas et dans laquelle les principes de précaution et de proportion sont appliqués sur la base d'un ensemble de facteurs et d'avis d'experts :

- suivi des réglementations et standardisations existantes et nouvelles au niveau européen et américain ;
- participation à diverses initiatives, associations et réseaux internationaux consacrés aux enjeux des nanotechnologies ;
- suivi des études (éco)toxicologiques et implication dans divers projets de recherche ;
- identification des paramètres qui différencient le mieux les nanomatériaux présentant des effets « nouveaux » (surface, réactivité...) ;
- inventaire des méthodes appropriées pour évaluer l'exposition aux nanoparticules ;
- inventaire des fiches de données de sécurité (FDS) de produits achetés spécifiques aux nanoproducts et développement de nos propres « nano-FDS » ;
- production de documents d'information à destination des travailleurs et des commerciaux impliqués dans les produits « nano » ;
- animation d'une communauté multidisciplinaire interne de pratiques « nano » qui évalue la sécurité des travailleurs exposés et les mesures à adopter en cas de suspicion de risques sanitaires.

La collecte de l'information sur une nanosubstance particulière doit prendre en compte, outre ses dangers potentiels, l'évaluation de l'exposition potentielle et des risques liés à cette exposition. Parmi les éléments de la maîtrise de ces risques, les options suivantes seront alors envisagées :

- communication de l'information aux utilisateurs (fiches de sécurité) ;
- définition de limites d'exposition internes ;
- confinement des nanomatériaux : travail en boîtes à gants, enrobage... ;
- mesures de protection d'ambiance et individuelle et évaluation de leur efficacité ;
- surveillance médicale et sanitaire ;
- traitement des déchets ;
- documentation et information des données collectées.

Conclusion

La connaissance des effets indésirables des produits chimiques qu'ils produisent ou utilisent est une responsabilité majeure des industriels. Ils ont besoin d'un cadre réglementaire clair qui leur permette d'anticiper au mieux les actions qu'ils ont ou auront à mener dans le cadre de leurs activités. En même temps, ils sont conscients des interrogations de la société civile quant aux éventuels effets néfastes des produits chimiques.

La toxicologie a bien entendu un rôle majeur dans ce domaine et son développement doit être encouragé. Idéalement, les méthodes expérimentales doivent répondre à une série de critères quelque peu contradictoires. Elles doivent en effet être aussi représentatives que possible de la réalité biologique dans des conditions réalistes, notamment en termes de niveaux d'exposition. *A contrario*, elles doivent être aussi simples que possibles afin que leur coût ne soit pas un obstacle majeur à leur utilisation. La solution consiste sans doute en un mix entre des méthodes simples permettant une première orientation et des méthodes plus complexes permettant d'affiner les connaissances. Il faut souhaiter que l'avancée des connaissances permette la poursuite du développement de ces méthodes afin de pouvoir réaliser des analyses de danger et des évaluations de risque les plus pertinentes possibles.

Notes et références

- (1) *Règlement REACH* : règlement (CE) n° 1907/2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), instituant une agence européenne des produits chimiques (ECHA).
- (2) *Règlement CLP* : règlement (CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et mélanges.
- (3) *SGH* : Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage (GHS en anglais).
- (4) *CMR* : cancérigène, mutagène ou toxique pour la reproduction.
- (5) www.oecd.org/fr/securitechimique/essaisdesproduitschimique
- (6) *State of the art report on mixture toxicity*, European Commission, 2009 (http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report_Mixture%20toxicity.pdf) ; *Toxicity and assessment of chemical mixtures*, European Commission, 2012 (http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/environmental_risks/docs/scher_o_155.pdf) ;

Effects of chemical co-exposures at doses relevant for human safety assessments, ECETOC, 2012 (http://www.ecetoc.org/index.php?mact=MCSoap,cntnt01,details,0&cntnt01by_category=5&cntnt01template=display_list_v2&cntnt01order_by=Reference%20Desc&cntnt01display_template=display_details_v2&cntnt01document_id=6370&cntnt01returnid=89).

- (7) http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/computational_toxicology/qsar_tools/QRF.
- (8) *Les méthodes in silico pour tester la toxicité des substances chimiques - Une introduction* (http://in-silico-methods.eu/sites/default/files/Introductory_leaflet_on_in-silico_methods_fr.pdf) ; *Online course: QSAR methods for REACH* (<http://in-silico-methods.eu/presentations/online-course-qsar-methods-for-reach/intro>).
- (9) *Toxicity testing in the 21st century: A vision and a strategy*, National Academy of Science, 2007 (http://dels.nas.edu/resources/static-assets/materials-based-on-reports/reports-in-brief/Toxicity_Testing_final.pdf).
- (10) On appelle *perturbateurs endocriniens* soit une substance ou un mélange de substances d'origine exogène possédant des propriétés susceptibles d'induire une perturbation indésirable d'un équilibre hormonal dans un organisme intact, sur ses descendants ou sur des (sous-)populations, soit des agents exogènes qui interfèrent avec la production, la libération, le transport, le métabolisme, la liaison, l'action ou l'élimination des ligands naturels responsables du maintien de l'homéostasie et de la régulation du développement de l'organisme.
- (11) www.oecd.org/env/chemicalsafetyandbiosafety/testingofchemicals/endocrinedisruptertestingandassessment.htm
- (12) *LRI* : programme « Long-range Research Initiative » mis en place par le Cefic (syndicat professionnel de l'industrie chimique au niveau européen), www.cefic-lri.org.
- (13) www.cefic.be/en/Endocrine-Disruption.html.
- (14) C'est beaucoup moins le cas pour les aspects physico-chimiques et écotoxicologiques. Les résultats des tests classiques sont généralement inexploitablement en écotoxicologie aquatique. Les appendices concernant les nanomatériaux qui ont été ajoutés en 2012 aux guides techniques d'application du règlement REACH sont considérés par beaucoup comme à tout le moins insatisfaisants.



J. de Gerlache

Jacques de Gerlache

est toxicologue, responsable communication de crise et développement durable, Solvay*.

Pascal Isnard

(auteur correspondant)

est directeur HSE produits, « product stewardship » chez Sanofi**.



P. Isnard

* Solvay, Rue de Ransbeek 310, B-1120 Bruxelles.
Courriel : jacques.degerlache@solvay.com

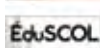
** Sanofi, 9 rue Salvador Allende, F-94250 Gentilly.
Courriel : pascal.isnard@sanofi.com

<http://culturesciences.chimie.ens.fr>

Le site CultureSciences-Chimie est conçu pour assurer une formation scientifique de haut niveau, accessible à tout utilisateur, en particulier aux enseignants.

Ce site constitue un centre de ressources pour enseigner la chimie, en lien direct avec l'avancement des connaissances au sein des laboratoires de recherche.

Alors vite à vos souris !



La toxicologie : une recherche de plus en plus multidisciplinaire et mécanistique, avec des retombées en biologie et en chimie

Daniel Mansuy



La pharmacologie et la toxicologie ont une ambition commune, vitale pour l'homme et son environnement, qui est d'étudier, de comprendre et, à terme, de prévoir les **effets des composés chimiques ou biologiques sur les êtres vivants**. La pharmacologie s'intéresse plus particulièrement aux effets bénéfiques de certains de ces composés chez l'homme, alors que la toxicologie s'intéresse, de façon beaucoup plus générale, aux effets néfastes que peuvent avoir tous ces composés sur les êtres vivants et les écosystèmes. Ces effets néfastes ont des conséquences dans des domaines très divers comme ceux du médicament, de la médecine légale, de l'agroalimentaire, du risque professionnel, de la pollution et de l'environnement.

Deux caractéristiques essentielles sont à prendre en compte dans le domaine de la toxicologie : **l'importance de la dose** et **l'extrême complexité des interactions et des réactions intervenant entre les composés d'origine chimique ou biologique et les êtres vivants**. « *Tout est poison,*

et rien n'est sans poison ; c'est la dose qui fait le poison », la célèbre phrase de Paracelse insistait déjà sur cette importance de la dose [1]. En fait, le plus souvent, un même composé va être capable d'interagir fortement, ou de réagir, avec plusieurs macromolécules de l'organisme, comme des protéines ou des acides nucléiques, et de perturber leur fonctionnement. Chacune de ces interactions intervient à des concentrations différentes du composé et conduit soit à des effets toxiques, soit, dans certains cas, à des effets bénéfiques. De plus, le composé en question va être en général transformé dans l'organisme en une série de métabolites susceptibles eux-mêmes d'interagir ou de réagir avec différents sites de la cellule en pouvant conduire à des effets toxiques. Un bon médicament doit agir sur la cible biologique responsable de son effet thérapeutique à la plus faible dose possible, de façon à limiter au maximum ses réactions avec des composants de l'organisme conduisant à des effets toxiques qui n'apparaissent en général qu'à des concentrations plus élevées. Ainsi, une étude récente concernant les médicaments récemment retirés du marché à cause d'une toxicité de type idiosyncrasique (de survenue rare, liée à une réactivité particulière du patient et très difficile à prévoir par les tests usuels de toxicologie chez l'animal) ainsi que les deux cents médicaments les plus prescrits aux États-

Unis en 2009 montre qu'un élément majeur pour l'apparition d'une telle toxicité est la dose journalière administrée [2]. Si la dose journalière est inférieure à 50 mg/kg, les médicaments administrés sont très rarement associés à l'apparition de ce type de toxicité. Il faut toutefois mentionner que l'exposition à long terme à des doses faibles de certains composés comme les perturbateurs endocriniens conduit à des effets toxiques chez l'homme.

Un exemple qui illustre bien l'importance de la dose en toxicologie et la grande complexité des interactions intervenant entre un composé et un être vivant concerne **les médiateurs gazeux, NO, CO et SH₂**, dont les rôles physiologiques n'ont été découverts qu'à la fin du XX^e siècle. Jusqu'à très récemment, ces molécules élémentaires étaient bien connues pour leurs effets toxiques. Ce n'est que depuis les années 1990-2000 que leurs rôles physiologiques majeurs au niveau du système cardiovasculaire, du système nerveux central et/ou du système immunitaire ont été mis en évidence [3].

La première découverte majeure dans ce domaine date en fait de 1987 ; il s'agit de la démonstration de l'effet vasorelaxant de NO et de la proposition que NO est le facteur de relaxation produit par l'endothélium vasculaire (« endothelium derived relaxing factor », EDRF). NO, CO et SH₂ sont produits chez l'homme en petites quantités grâce à des voies biosynthétiques spécifiques hautement régulées. Aux basses concentrations où ils sont formés, ils exercent leurs effets physiologiques par interaction avec des cibles spécifiques comme une hémoprotéine, la guanylate cyclase, dans le cas de NO et CO. Lorsqu'ils sont présents à plus hautes concentrations, à cause soit d'un dysfonctionnement de leur biosynthèse, soit d'une exposition de l'organisme à ces molécules présentes dans notre environnement, divers effets toxiques apparaissent. Ceux-ci sont dus à leurs interactions (ou réactions) avec d'autres cibles biologiques de l'organisme. Ainsi, NO en excès est par exemple responsable de la survenue de chocs septiques ou est impliqué dans le démarrage de maladies neurodégénératives, et CO est bien connu pour bloquer la respiration en se fixant sur le fer de l'hémoglobine.

La toxicologie a évolué de façon considérable depuis quelques dizaines d'années. Du fait des progrès rapides des nombreuses disciplines qui la sous-tendent, **on est progressivement passé d'une toxicologie principalement descriptive et analytique à une toxicologie explicative, mécanistique et prédictive**. Cette tendance devrait s'accélérer encore dans les années à venir pour plusieurs raisons. La première est la pression de plus en plus forte de limiter, voire d'interdire l'utilisation d'animaux, et de remplacer les tests toxicologiques *in vivo* par des tests *in vitro*. La seconde est la nécessité de mettre au point des tests *in vitro* pour la prévision des toxicités dues à des expositions à de faibles doses mais répétées sur des temps très longs. Une troisième raison est la sortie en 2007 du Règlement européen sur l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques (REACH), qui rend nécessaire l'étude toxicologique d'un nombre considérable de molécules dans les années à venir. Tout ceci pousse à la mise au point de nouveaux tests *in vitro*, voire *in silico* (en utilisant les méthodes de la chimie théorique et calculatoire couplées à celle de la biologie systémique [4]). **La mise au point de tels tests passe par une compréhension détaillée, au niveau moléculaire, des mécanismes de toxicité du plus grand nombre de molécules possible**. Il est difficile de prévoir jusqu'où on pourra aller dans l'établissement de corrélations entre structure moléculaire et toxicité, et dans l'utilisation de méthodes *in vitro* et *in silico* pour la prévision précoce de la survenue d'effets toxiques d'une nouvelle molécule.

Pour étudier, comprendre et prévoir ces interactions complexes entre molécules et êtres vivants, **l'approche toxicologique se doit d'être multidisciplinaire** et de faire intervenir la physique (par exemple pour comprendre les propriétés particulières des nano-objets), la chimie et la biochimie analytique, la chimie des transformations métaboliques et des espèces réactives électrophiles et radicalaires, la biochimie des interactions entre molécules et macromolécules biologiques, la biologie moléculaire et cellulaire, la génomique et la métabolomique, la physiologie, l'anatomopathologie, l'immunologie, l'épidémiologie et la toxicologie clinique. Elle s'appuie aussi de plus en plus sur l'informatique et les méthodes de calcul pour le développement récent et rapide de la toxicologie *in silico*. L'interface entre chimie et biologie tient une place particulièrement importante dans le développement de la toxicologie mécanistique et prédictive.

Ce développement de la toxicologie devrait avoir des retombées importantes dans plusieurs domaines scientifiques. Les besoins accrus en toxicologie analytique, en particulier dans le dosage de toxiques à des seuils permis de plus en plus faibles, devraient conduire à des progrès importants en chimie analytique. Les études de toxicologie mécanistique qui vont concerner les interactions d'un nombre toujours croissant de molécules (cf. REACH) avec un grand nombre d'organismes vivants vont être réalisées avec les méthodes de plus en plus puissantes de la chimie et de la biologie. Elles vont conduire à une mine considérable de données qui devraient être à la base de nombreuses découvertes en biologie (nouveaux types d'interaction molécule-vivant, nouveaux médiateurs à la suite de NO, CO et SH₂...) comme en chimie (nouvelles espèces réactives comme, à l'époque, les oxydes d'arènes [5] ou les sulfoxydes de thiophènes [6], et leurs réactions avec les nucléophiles cellulaires, nouveaux ligands des métaux de transition comme les nitrosoalcanes formés entre autres au cours du métabolisme de certains antibiotiques macrolides et capables de se fixer avec une très forte affinité au fer des hémoprotéines [7]...).

D'ores et déjà, **les progrès de la toxicologie ont conduit à l'entrée beaucoup plus précoce des raisonnements et des outils toxicologiques dans la conception et la mise au point d'une nouvelle substance active** dans les domaines du médicament et de l'agrochimie. Ceci devrait aussi être le cas pour la recherche de nouveaux produits dans l'industrie chimique.

Notes et références

- [1] Ceci est une traduction adaptée d'une phrase de Paracelse écrite en allemand : « *Alle Dinge sind Gift, und nichts ohne Gift; allein die Dosis macht, daß ein Ding kein Gift ist.* »
- [2] Stepan A.F., Walker D.P., Bauman J., Price D.A., Baillie T.A., Kalgutkar A.S., Aleo M.D., Structural alert/reactive metabolite concept as applied in medicinal chemistry to mitigate the risk of idiosyncratic drug toxicity: a perspective based on the critical examination of trends in the top 200 drugs marketed in the United States, *Chem. Res. Toxicol.*, **2011**, 24, p. 1345.
- [3] Voir par exemple une série de revues sur le sujet publiées dans *Critical Care*, **2009**, 13 (213, 218 et 220).
- [4] Voir par exemple : Kimber I., Humphris C., Westmoreland C., Alepee N., Dal Negro G., Manou I., Computational chemistry, systems biology and toxicology. Harnessing the chemistry of life: revolutionizing toxicology. A commentary, *J. Appl. Toxicol.*, **2011**, 31, p. 206.
- [5] Jerina D.M., Daly J.W., Arene oxides: a new aspect of drug metabolism, *Science*, **1974**, 185, p. 4151.
- [6] Mansuy D., Valadon P., Erdelmeier I., Lopez-Garcia P., Amar C., Girault J.P., Dansette P., Thiophene S-oxides as new reactive metabolites: formation by cytochrome P450-dependent oxidation and reaction with nucleophiles, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1991**, 113, p. 7825.
- [7] Mansuy D., Battioni P., Chottard J.C., Riche C., Chiaroni A., Nitrosoalkane complexes of iron porphyrins: analogy between the bonding properties of nitrosoalkanes and dioxygen, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1983**, 105, p. 455.



Daniel Mansuy

est directeur de recherche émérite au CNRS, à l'UMR 8601 de l'Université Paris Descartes*.

* UMR 8601, 45 rue des Saints-Pères, F-75270 Paris Cedex 06.
Courriel : daniel.mansuy@parisdescartes.fr

Universités et grandes écoles : deux modèles complémentaires

Rencontre avec Valérie Cabuil, directrice de l'ENSCP

À moins d'être directement mêlé au processus d'évolution de l'enseignement supérieur, il est difficile de réaliser la profondeur des changements en cours. Il n'est pas exagéré de parler d'une « révolution culturelle » qui est en train de bouleverser des aspects fondamentaux traditionnels caractéristiques de la France depuis deux siècles. Pour mieux comprendre ces changements, nous avons interrogé Valérie Cabuil, directrice de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Paris.

Paul Rigny : L'enseignement supérieur français est organisé selon un double système : il y a les grandes écoles et les universités. C'est au milieu de cette dichotomie qu'en tant que directrice de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Paris (ENSCP, au sein de PSL⁽¹⁾), vous devez évoluer. Comment vous situez-vous ?

Valérie Cabuil : En tant que professeur des universités, j'ai travaillé à l'université, du premier cycle à l'école doctorale. J'en connais par expérience tous les niveaux. **Ce qu'on demande à l'université est vraiment très difficile.** Je comparerais cela à une « course à handicap » : on lui demande de former des étudiants à bac + 5 de haut niveau, qui seront en compétition sur le marché de l'emploi avec les ingénieurs, à partir d'étudiants qui arrivent à l'université sans sélection, encore trop rarement en premier choix, avec un niveau scolaire et surtout une motivation moyenne. Personnellement, je comprends l'agacement des universités devant les reproches qu'on leur fait parfois concernant leur efficacité. Elles doivent prendre en charge tous les bacheliers et consacrer une partie de leurs ressources à les mettre à un niveau homogène et à les orienter. Les écoles sont à cet égard dans une situation plus confortable.

Comment les écoles doivent-elles se positionner par rapport à l'université ?

Les universités évoluent très rapidement et si elles deviennent en mesure d'augmenter le niveau de leurs exigences auprès des étudiants, le rôle des écoles devra évoluer. Elles ne pourront se contenter d'être une alternative sélective, mais devront bien argumenter sur ce qu'elles apportent en plus de l'université. Peut-être que d'ici quelques années, la majeure partie des écoles d'ingénieurs d'aujourd'hui seront intégrées dans des établissements universitaires, voire diluées, et seules celles dont la spécificité est évidente subsisteront sous un statut propre.

Est-ce vraiment une prévision réaliste ? Les universités seront-elles en mesure de réussir un tel redressement ?

L'État a souhaité replacer les universités au centre du dispositif d'enseignement supérieur et de recherche – ce qui est parfaitement logique. Cette politique a provoqué de profondes modifications au sein de l'université. Je viens personnellement d'une université de très haut niveau (Paris 6) et je peux témoigner du changement considérable que j'ai vu en peu d'années.

On sait que l'innovation pédagogique est en effet à l'œuvre dans les universités, mais le problème crucial de l'attractivité des sciences dures auprès des étudiants demeure. C'est même une question qui est devenue un problème de société autant qu'un problème d'enseignement.

En effet, la société ne valorise ni les formations scientifiques, ni la culture scientifique, ni les carrières scientifiques. Le diplôme de « docteur » aujourd'hui n'impressionne guère en France, pas plus qu'une carrière de professeur ou d'ingénieur – largement moins en

tout cas qu'une activité dans la finance. Ce n'est pas le cas dans d'autres pays.

Avec votre double expérience d'universitaire et de directrice d'école d'ingénieurs, quelles voies verriez-vous pour redresser cette situation ?

Il s'agit d'un problème de société, donc difficile à infléchir au niveau de l'enseignement supérieur, mais il ne faut pas désespérer. La réputation des carrières scientifiques est l'affaire de tous, et en particulier je regrette que les entreprises – qui après tout sont les premières intéressées – ne fassent pas les efforts qu'il faudrait dans ce domaine. Il s'agit aussi bien de leur politique salariale que de l'image qu'elles donnent des carrières techniques, qui sont souvent la première étape d'une carrière en entreprise, et non son aboutissement. Par ailleurs,

la façon dont est vécue par les entreprises la dichotomie française entre universités et écoles n'a pas encore suffisamment évolué.

Les études et les carrières scientifiques, de chercheurs comme d'ingénieurs, présentent cependant de nombreux atouts concernant la qualité de la vie ; on peut citer leur dimension internationale, par exemple, que les grandes écoles exploitent à grande échelle. Est-ce qu'aujourd'hui, à l'heure de la globalisation, cela ne profite pas aux carrières scientifiques ?

Une carrière internationale peut plaire, ou pas, en termes de qualité de vie. En tout cas, conscients qu'elle est fort probable, nos élèves partent au moins une fois à l'étranger lors de leurs années d'école. À noter qu'à l'étranger, le diplôme de doctorat est mieux reconnu.

On a parlé récemment (à propos de la signature officielle d'un accord) des initiatives de l'ENSCP en direction de la Chine. Ces actions sont-elles importantes dans votre politique ? Pensez-vous par exemple que cette collaboration sur l'enseignement soit susceptible de dynamiser les relations entre les deux pays sur les formations d'ingénieurs et puisse leur donner des prolongements concrets ?

Oui, ces actions sont importantes, et la Chine n'est pas le seul pays visé. Vous voulez parler certainement de l'IFCEN, l'Institut franco-chinois sur l'énergie nucléaire, en commun avec l'INP de Grenoble, Chimie Montpellier, les Mines de Nantes et le CEA/INSTN. Nous allons diplômer dans cet Institut annuellement une centaine d'étudiants chinois. Le cursus va de la classe préparatoire jusqu'au diplôme d'ingénieur, en envoyant des enseignants français sur place. Nos formations d'ingénieurs sont considérées comme un modèle en Chine ; cela mérite d'être médité.

Qu'attendez-vous de ces efforts ?

L'objectif se situe au niveau de la diffusion de la culture technique française. À nos collègues industriels d'en exploiter les possibilités. Les résultats sur le long terme ne peuvent être garantis, bien entendu : il s'agit d'une opération de confiance qui donnera des résultats si nous assurons des formations de qualité.



© Chimie ParisTech/L. Ollier.



Pour mener sa politique – initiatives internationales ou vie des étudiants –, l'ENSCP a besoin de moyens. On disait tout à l'heure que la situation financière des écoles était favorable. Comment cela évolue-t-il pour vous dans le contexte actuel ?

Le soutien public existe, mais reste très insuffisant pour mettre en œuvre tous les projets que nous voudrions mener à bien. Nous sommes donc de plus en plus incités à « aller chercher des ressources ailleurs ». Sur ce point, j'aurais souhaité que les entreprises se rendent mieux compte de nos efforts, participent davantage et nous aident mieux dans nos initiatives. Dans notre école, elles cofinancent, bien sûr, un certain nombre de recherches de nos laboratoires, mais ne participent que peu au niveau de l'établissement, excepté Areva qui parraine une chaire à l'école. Compte tenu de l'importance des industries chimiques en France, on pourrait ambitionner plus.

Concernant la condition de vie des étudiants (le logement en particulier), les écoles ne sont-elles pas mieux loties que les universités ?

La question du logement est cruciale pour tous les étudiants qui veulent étudier à Paris. Certaines écoles bénéficient traditionnellement de solutions (ESPCI, les Mines), mais ce n'est pas le cas de notre école. Cette situation complique naturellement les possibilités du recrutement d'élèves étrangers et provinciaux. Nous avons tout de même des avantages par rapport à l'université : une solidarité de promo à promo, une forte implication de l'« association des anciens élèves », et globalement une vie sociale entre étudiants importante et stabilisante.

Faut-il en déduire qu'une sélection par l'argent est à l'œuvre ? C'est l'un des éléments souvent mis en avant dans les comparaisons entre universités et grandes écoles.

Même dans une école comme la nôtre, certains élèves sont obligés de travailler le week-end ou le soir pendant leurs études à l'école. C'est certainement plus rare qu'à l'université, du moins en premier cycle.

Abordons si vous le voulez bien, les évolutions institutionnelles actuelles, les divers mécanismes en cours de montage pour rapprocher les établissements les uns des autres, les mélanges culturels... En particulier, parlez-nous de « Paris Sciences et Lettres » (PSL), qui vient de passer brillamment la sélection des Idex⁽²⁾. On parle de rapprochements entre sciences dures, beaux-arts, économie (Dauphine), etc. Dans quelle mesure pensez-vous que ces rapprochements peuvent annoncer un nouveau système, dont PSL serait une illustration, où les universités et écoles se trouveraient transformées ?

PSL a une vraie volonté de faire bouger les frontières (entre disciplines, entre établissements). ParisTech avait été créé il y a quelques années avec cette même démarche de rapprochement entre institutions. L'idée inspiratrice est qu'il faut construire des ensembles visibles à l'échelle internationale.

Mais pourquoi alors faire autre chose que ParisTech ?

Le projet PSL a été conçu et s'est construit comme un projet Paris intra muros et avec une dynamique exemplaire. C'est un schéma d'université pluridisciplinaire original où l'on assume la sélection et où les établissements qui constituent PSL sont tous complémentaires. Aucun d'entre eux ne cède sur son identité et ses spécificités, mais tous œuvrent vers un objectif commun de formation visant à rendre les frontières entre grandes écoles et universités caduques. Dans ce contexte, ESPCI et ENSCP travaillent à leur rapprochement dans le cadre de la « School of Engineering » de PSL, avec une approche pragmatique consistant à monter des formations et des projets de recherche en commun afin de cultiver leur complémentarité.

Et les statuts, question sur laquelle tant de projets échouent ?

La question des statuts ne doit pas faire obstacle. On parle de la création d'un institut d'ingénierie qui engloberait, entre autres, ESPCI et ENSCP, pas de fusion ; les concours restent différents. Et cela n'empêche pas que nous partagions la philosophie de PSL : la nécessité de la formation des ingénieurs par la recherche.

Une approche semblable s'applique aussi avec les autres composantes de PSL, Dauphine par exemple dans le domaine économie/finances ?

Tout à fait et on va généraliser la construction de doubles cursus. L'un, avec Dauphine, démarre sur le journalisme. Il ne s'agit pas de former des journalistes pour qu'ils deviennent journalistes scientifiques obligatoirement, mais pour qu'ils soient au fait de la démarche scientifique tout en restant généralistes. Plusieurs autres doubles cursus sont en préparation et Dauphine est un partenaire qui a beaucoup de sens pour nous. Nous avons déjà trois enseignants SHS permanents à l'école et nous voyons à quel point cela est fécond. Avec l'ENSAD (Arts Déco), on aurait également beaucoup de choses à se dire – sur les imageries, le design industriel, la culture en rapport avec les activités industrielles. Et je veux rappeler, pour éviter les mauvaises interprétations, que les doubles cursus de ce type n'excluent en rien des enseignements scientifiques de très haut niveau. Nous y veillons soigneusement.

On vous voit très motivée par le projet PSL.

Il est en effet porteur et créatif. Il ne s'agit pas seulement d'inventer et de dispenser des enseignements originaux et innovants : il s'agit de donner une nouvelle dimension à la pluridisciplinarité en jouant sur les spécificités de nos établissements. Un autre aspect motivant est le souhait de s'insérer dans la ville et de « rendre la montagne Sainte-Geneviève aux étudiants ».

On partagerait facilement l'enthousiasme de ce projet tel que vous l'esquissez. D'un autre côté, on frissonne rien qu'à penser au puzzle de la gouvernance d'une telle entreprise.

À PSL, les établissements ont tous su adopter une attitude d'ouverture, acceptant certaines concessions pour fonctionner ensemble en respectant nos spécificités. Le projet résulte d'un travail continu des directeurs d'établissements. Nous nous voyons tous les lundis pour le faire vivre. C'est ainsi qu'une dynamique commune s'est construite et s'épanouit.



À la lumière des collaborations inter établissements actuellement poussées, faut-il considérer que le projet ParisTech, né il y a une dizaine d'années, était mal orienté ?

Non, certes pas, mais des faits nouveaux sont intervenus. ParisTech a été mis à mal par le projet Saclay. Peut-être ParisTech n'a-t-il pas été assez vite ? C'était évidemment très novateur il y a dix ans, ParisTech a beaucoup fait progresser les esprits, et les étudiants des écoles lui sont très attachés. Cependant, aujourd'hui, les conceptions ont changé. Les écoles ont peut-être, malgré tout, trop vécu sur elles-mêmes, sans assez se questionner. Ceci étant, il semble qu'aujourd'hui on ne recherche plus de « grandes universités technologiques », mais des « collègiums d'ingénierie s'appuyant sur des universités ». C'est ce qui est en train de se construire dans la majeure partie des PRES⁽³⁾ et Idex.

Mais la position particulière de l'ENSCP ?

L'ENSCP est attachée à ParisTech, mais cette institution va certainement évoluer. En ce qui concerne l'ancrage universitaire de l'école, que nous considérons comme une pierre angulaire de notre politique, il est clair que nous avons fait le choix prioritaire de PSL – ce qui, il faut bien le comprendre, n'exclut en rien les collaborations avec d'autres, Paris 6 par exemple.

Un autre regroupement, certainement moins formel, existe aussi entre les écoles de chimie, la Fédération Gay-Lussac. Son rôle dans la défense de la chimie ne va-t-il pas manquer dans des regroupements parfaitement multidisciplinaires ?

La Fédération Gay-Lussac est très active et défend très bien les intérêts de la chimie. À l'heure de la mise en œuvre des profonds changements dont nous avons parlé, l'essentiel à mon sens est de bien analyser la qualité de nos écoles d'ingénieurs et de préserver leur réputation.

Au cours de cette interview, nous avons rencontré un certain nombre de différences entre écoles et universités, mais elles n'ont pas été soulignées comme avantages des premières.

Au bénéfice des écoles d'ingénieurs, un poids important de la formation expérimentale et un encadrement important **des élèves**. Les

classes préparatoires, avec une certaine « austérité », mettent aux mains des élèves des atouts importants au niveau de la maîtrise des méthodes de travail et des outils. Les étudiants sont ensuite fortement accompagnés dans une école comme la nôtre, avec l'organisation d'un véritable « coaching » : on conseille les étudiants dans leurs choix, et on les met en situation de travail en groupe et de management de « projet ». De surcroît, l'ensemble s'appuie sur le milieu professionnel – anciens élèves, industriels – qui participe non seulement à nos instances de gouvernance (Conseil d'administration, Conseil de perfectionnement) mais aussi à l'enseignement. Tout ceci, couplé avec la reconnaissance de la recherche et avec la pratique de la pluridisciplinarité constitue un contexte qu'on pourrait qualifier d'« idéal ».

Idéal ? Peut-être pas socialement puisque pour de simples questions de capacité du pays, il ne peut être mis à la disposition que d'un nombre relativement restreint d'étudiants.

Je pense que les importantes évolutions en cours et dont nous avons parlé dans cette interview sont l'occasion à la fois de faire vivre la qualité de la formation telle qu'on la conduit dans les grandes écoles, mais aussi de voir comment la proposer à un nombre croissant d'étudiants dans toutes les filières.

Madame la directrice, nous vous remercions de cet entretien.

- (1) PSL (Paris Sciences et Lettres) rassemble au sein d'une initiative d'excellence, les établissements et institutions suivantes : Chimie ParisTech, Collège de France, Conservatoire national supérieur d'art dramatique, Conservatoire national supérieur de musique et de danse de Paris, École nationale supérieure des arts décoratifs, École nationale supérieure des beaux-arts, École normale supérieure, ESPCI ParisTech, Fondation Pierre-Gilles de Gennes pour la recherche, Institut Curie, Institut Louis Bachelier, Mines ParisTech, Observatoire de Paris, Université Paris-Dauphine, CNRS, INRIA, Inserm (www.parissciencesetlettres.org).
- (2) Idex : initiative d'excellence. C'est l'un des dispositifs des opérations « Investissements d'avenir » lancées dans le cadre du grand emprunt. Il vise à faire émerger cinq à dix campus d'excellence, la première phase consistant en appels d'offres qui se sont déroulés en 2011 et 2012. PSL a reçu l'agrément Idex par décision du 4 juillet 2011.
- (3) PRES : pôle de recherche et d'enseignement supérieur.



102 avenue Georges Clemenceau - 94700 MAISONS ALFORT

Tél. : 01 43 53 64 00 - Fax : 01 43 53 48 00

edition@edif.fr - www.edif.fr

La biologie de synthèse, par et pour la chimie !

R. Agnès Jacquesy

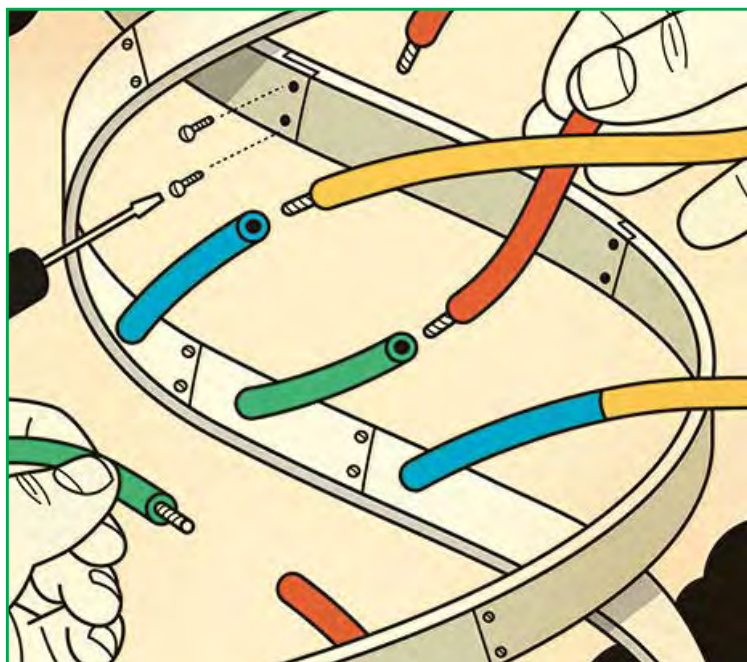


Illustration de Harry Campbell (harry@harrycampbell.net), reproduite avec son aimable autorisation.

La biologie de synthèse, un nouveau fantasme de chercheurs jouant les démiurges ? Ou une évolution logique, et même inéluctable, introduite par la chimie lorsque, après avoir amorcé la démythification du monde par l'analyse des éléments de notre environnement, elle s'est attaquée au processus inverse, celui de la synthèse. Synthèse des molécules de la vie, de la simple urée (Wohler, 1828) à la complexe vitamine B12 (Woodward et coll., 1972)... Et, « par-delà la synthèse, l'auto-organisation », la chimie supramoléculaire conceptualisée et développée par Jean-Marie Lehn, et à partir de laquelle peuvent se concevoir les voies de l'évolution, de l'inanimé au vivant, et du vivant au cours des millénaires.

« Là où la nature cesse de produire ses propres espèces, l'homme commence, en utilisant les choses naturelles et avec l'aide de cette nature même, à créer une infinité d'espèces » disait déjà Léonard de Vinci. La biologie de synthèse est donc fille naturelle de la chimie, ce qu'affirma, dès 1912, Stéphane Armand Nicolas Leduc (1853-1939), biologiste et chimiste français, professeur à l'École de médecine de Nantes, dans son livre *La biologie synthétique, étude de biophysique*. Son ambition était d'élucider divers mécanismes chimiques de la vie et de la biogenèse : « Quand on est arrivé à connaître le mécanisme de la production d'un objet ou d'un phénomène, [...] il devient possible [...] de reproduire l'objet ou le phénomène, la science est devenue synthétique. La biologie est une science comme les autres, [...] elle doit être successivement descriptive, analytique et synthétique. »

Qu'est la biologie de synthèse en réalité ?

Processus original, multidisciplinaire par nature, la biologie de synthèse est « l'ingénierie de composants et de systèmes biologiques qui n'existent pas dans la nature et la réingénierie d'éléments existants ; elle porte sur le design intentionnel de systèmes biologiques artificiels, plutôt que sur la compréhension de la biologie naturelle. »

Construire des systèmes biologiques à partir de composants non issus du vivant, c'est l'**approche bottom up**, qui pourrait aboutir, en théorie, à « du vivant doté de fonctions différentes de celles du vivant connu », mais qui permettrait déjà de construire des systèmes entièrement artificiels imitant le comportement de cellules vivantes : elles sont qualifiées de cellules chimiques ou « chells ». Pour les construire et jouer à ce Lego®, il existe déjà un registre des « bio-briques », contenant une banque de séquences d'ADN... Depuis 2005, le MIT héberge un concours international très couru (plus de 160 équipes d'étudiants venus des cinq continents) : l'iGEM (« International Genetically Engineered Machine competition »). L'équipe Lyon INSA-ENS a remporté en 2011 une médaille d'or et le prix spécial « Best New BioBrick Device » pour son projet de dépollution.

L'**approche top down** vise à transformer les organismes existants en enlevant, remplaçant ou ajoutant des morceaux, spécifiques, transfert ou suppression de circuits génétiques ou de voies métaboliques. Un des objectifs est de réduire le génome d'un organisme jusqu'à la composition minimale nécessaire à sa survie. Le séquençage et la synthèse artificielle – chimique – d'ADN le permet, et l'Américain Craig Venter en est le pape, assez controversé pour sa tendance à « en faire beaucoup » ! Son projet *Mycoplasma laboratorium* en est l'exemple, alors que son projet *Synthia* consiste à remplacer l'ADN d'une bactérie dans sa totalité par un ADN synthétique.

Dans l'**approche proto-cellules**, ce sont des vésicules artificielles, analogues à des cellules à la machinerie simplifiée, qui assument le rôle d'une petite usine absorbant sélectivement la ou les molécule(s) à détecter ou transformer.

À quoi peut-elle servir ?

Et quels sont les espoirs concrets qu'elle porte, et qui complètent l'apport spécifique et toujours indispensable de la chimie ?

La fabrication de médicaments en est un exemple : on connaît de longue date la production par biotechnologie de la pénicilline, produite naturellement par un champignon. Pour l'artémisinine, antipaludéen naturel, il est obtenu à moindre coût et en grande quantité par Jay Keasling, qui a transféré les gènes nécessaires de la plante *Artemisia annua* dans une simple levure de boulanger : elle synthétise ainsi, à partir de sucre, un précurseur de l'artémisinine au lieu d'alcool. L'incontournable chimie, nécessaire pour l'industrialisation du médicament, intervient au niveau de la fermentation de la levure et de l'hémisynthèse qui

transforme le précurseur en produit actif (Sanofi vient d'obtenir le prix Pierre Potier 2012 pour ces étapes). C'est également *Saccharomyces cerevisiae* qu'a utilisé le chimiste français Denis Pompon pour synthétiser l'hydrocortisone (ou cortisol), un anti-inflammatoire notoire, à partir de sucre ou d'alcool. Ces deux composés sont sur le point d'être produits industriellement et mis sur le marché.

L'énergie est un autre domaine d'application fondamental pour disposer de sources alternatives aux ressources fossiles et contribuer à la réduction des gaz à effet de serre. C'est aussi une alternative aux agrocarburants qui exercent une pression insoutenable sur l'eau et les terres agricoles : José Graziano da Silva, directeur général de l'organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), a demandé, en août 2012, l'arrêt de la production de bioéthanol à partir de maïs pour éviter une crise alimentaire. Le butanol obtenu à partir de divers déchets celluloseux est donc un objectif de choix, car directement utilisable par un moteur à essence. De son côté, la société française Global Bioenergies produit de l'isobutène à partir de sucre en ayant subtilement transformé des voies enzymatiques (non précisées). Gazeux – nul besoin donc de le purifier –, facilement transformé, l'isobutène peut être utilisé comme source d'essence, comme précurseur de diesel et de kérosène. Il peut aussi conduire au PET (polyéthylène téréphtalate) des bouteilles plastique, à la fabrication de caoutchouc artificiel, etc.

Pour un meilleur rendement, une alternative à l'extraction intermittente de bio-huile produite par des algues cultivées et récoltées pourrait être, grâce à la biologie de synthèse, sa sécrétion en continu à travers leur paroi cellulaire, technique développée par la société américaine Synthetic Genomics Inc. en contrat avec ExxonMobil. La production d'hydrogène (via *E. coli* transformé notamment) et même le transport d'électricité photosynthétique via la bactérie *Shewanella oneidensis* sont aussi à l'étude.

Chimie de commodité et chimie de base ne sont pas hors du champ, elles sont notamment approchées par la société française METabolic EXplorer à l'aide de « bactéries performantes » (évidemment non dévoilées, protection industrielle oblige !), permettant la synthèse économique de divers composés, notamment par l'utilisation de précurseurs renouvelables (sucre, paille, etc.). Créée en 1999 à Clermont-Ferrand, elle est la seconde PME de biologie de synthèse au monde par sa taille et développe cinq produits, dont deux avec la société Roquette : la L-méthionine, deuxième acide aminé le plus vendu au monde pour l'alimentation animale, et l'acide glycolique, utilisé dans les produits cosmétiques et la fabrication de plastiques biosourcés (c'est-à-dire issus de matières premières agricoles). Les 1,3 et 1,2-propanediol aux innombrables applications sont biosynthétisés à partir de glycérol et/ou par fermentation. Quant au butanol, c'est la bactérie *Clostridium* qui le synthétiserait à partir de ressources renouvelables. Le marché mondial pour les cinq produits est estimé à entre 1,5 et 3 milliards d'euros !

Environnement (bioremédiation, détection de polluants toxiques), agriculture (plantes transformées, production de pesticides « naturels » par des insectes génétiquement modifiés) et même biomatériaux par ré-ingénierie du système de sécrétion de la bactérie *Salmonella typhimurium* pour produire les protéines de la soie de l'araignée... sont les cibles principales de la biologie de synthèse, avec divers projets de mise au point de vaccins, de diagnostics non invasifs, de suivi des patients atteints de SIDA et d'hépatite, de peau artificielle, etc.

Mais toutes ces approches exigent la connaissance et la synthèse chimique de l'ADN ou de fragments d'ADN..., en n'oubliant pas que contrairement aux idées reçues, des circuits de régulation génétique simples et ubiquistes peuvent avoir des comportements différents, complexes et même surprenants selon les êtres vivants qui les hébergent. C'est la notion d'émergence,

quand on passe d'une échelle à l'autre, de la molécule – brique – à la cellule, puis à l'organisme vivant complet, comme cela a été rappelé lors du colloque « De la chimie de synthèse à la biologie de synthèse » organisé par le Collège de France en 2009 : le tout vivant est autre et plus que ses éléments constitutifs (d'où le côté peu fiable de la transposition des études *in vitro* à *in vivo*, et encore moins de la souris à l'homme !).

Quels sont les risques ?

Mais alors, la biologie de synthèse est, par nature, source de risques inconnus et, pire encore, imprévisibles ? Pas si évident, nous expliquent informaticiens, ingénieurs et chimistes habitués, au contraire de beaucoup de biologistes, à comprendre en construisant et à générer des solutions nouvelles, différentes de celles du vivant et mieux contrôlées. À titre d'exemple, la synthèse industrielle par *E. Coli* recombiné de l'hormone de croissance dès 1981 aurait évité la mort par la maladie de Creutzfeldt-Jacob de 117 jeunes Français traités par l'hormone naturelle, extraite de glande pituitaire humaine.

Les risques liés à la biologie « de garage » (les initiatives incontrôlables d'amateurs) ne sont cependant pas nuls. Il est en effet aisé de synthétiser des fragments d'ADN (ou de les acheter à prix abordable). Certes, l'action « naïve » de « biohackers » comme celle, malveillante, de bioterroristes, ne peut être sous-estimée. Cependant, de nombreuses expériences montrent que plus les micro-organismes sont modifiés génétiquement, plus ils sont vulnérables, car pour s'adapter, ils subissent de nombreuses mutations supplémentaires qui les fragilisent. C'est le cas pour le super virus « artificiel » de la grippe aviaire H5N1, plus contagieux mais moins virulent que le virus initial, lui-même d'ailleurs sujet à des mutations aléatoires fréquentes (Ron Fouchier, *Science*, 21 juin 2012).

La commission de bioéthique mise en place par le président Obama a décidé de se référer au principe de « vigilance prudente » qui repose sur une évaluation continue des risques et sur une démarche pragmatique. Bien que la Grande-Bretagne ait organisé sans dommage en 2009-2010 une conférence citoyenne sur la biologie de synthèse, l'expérience française des OGM et des nanotechnologies n'encourage malheureusement pas les autorités compétentes, notamment politiques car décisionnelles, à renouveler ce jeu de rôle qui s'est avéré plus stérile que constructif.

Sources

- www.biologiedesyntese.fr
- Fioraso G., *Les enjeux de la biologie de synthèse*, Rapport OPECST, 15 fév. 2012.
- <http://fr.wikipedia.org/wiki/IGEM>
- *Biologie de synthèse, développement, potentialités et défis*, Rapport du Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche, 14 déc. 2011 (mise à jour 5 mars 2012).
- Papon P., *Bref récit du futur, Prospective 2050, science et société*, Albin Michel, Bibliothèque Sciences, 2012.



R. Agnès Jacquesy

est membre de commissions d'évaluation des chercheurs au Ministère chargé du Développement durable. Au cours de sa carrière, elle a notamment été directrice scientifique adjointe du département Chimie, puis du département Sciences de la vie du CNRS, ainsi que directrice adjointe du PIREN (programme interdisciplinaire sur l'environnement)*.

* agnes.jacquesy@noos.fr

L'innovation technologique

Moyens et méthodes

Philippe Pichat

L'objectif de la recherche scientifique est d'améliorer nos connaissances ; celui de l'innovation technologique est, au moyen d'entreprises, de nous apporter des satisfactions en assouissant nos besoins. L'innovation technologique constitue un levier remarquable pour la création de valeur. Un exemple : la société SNF, créée en 1978 par seulement un ingénieur chimiste et un diplômé d'une école de commerce pour développer de nouvelles utilisations de dérivés du polyacrylamide, a atteint un chiffre d'affaires de 1,6 milliards d'euros en 2011 avec des floculants pour le traitement des eaux usées... Un manager rappelait récemment que « nous devons faire des bénéfices pour continuer à innover, une collectivité peut d'autant plus financer en amont de la recherche scientifique que ses entreprises réussissent des innovations technologiques. »

L'innovation technologique

Types et cycles de vie

On considère ici les seuls produits réellement nouveaux dans leurs caractéristiques ou dans leurs fonctions. En simplifiant, on peut distinguer un premier type d'innovation technologique basé sur le transfert de technologie qui consiste à appliquer à un nouveau domaine une technologie existante, comme par exemple l'utilisation des piles au lithium initialement conçues pour des PC à des véhicules électriques. Le second type utilise pour la première fois des connaissances spécifiques provenant de la recherche scientifique, par exemple des catalyseurs métallocènes pour fabriquer des thermoplastiques davantage utilisables dans l'industrie automobile.

Une innovation technologique a une vie spécifique. Prenons un exemple : Henri Guerin est ingénieur chimiste ; il observe que l'utilisation de peinture sur des volets en bois de sa maison i) nécessite beaucoup de préparation de surface astreignante et coûteuse en main d'œuvre pour enlever la peinture craquelée, ii) n'apporte pas de protection en profondeur contre les micro-organismes. Lui vient alors l'idée d'un produit qui, lui, imprègnerait le bois et ne produirait pas de film en surface : le lasure. Il fait de la « veille technologique » pour confronter ce besoin visionné à ce qui été publié,

effectue des essais, confie des échantillons à un artisan peintre ami, discute « prix » avec un voisin, patron d'un magasin spécialisé pour le bâtiment. Henri Guerin se pose les bonnes questions essentielles : peut-on fabriquer industriellement le produit avec les équipements existants ? À quel coût ? Y a-t-il un nouveau marché ? Quel serait le chiffre d'affaires prévisionnel cumulé ? Quels sont les risques technologiques et commerciaux ? Le combat pour ce nouveau produit en vaut-il la peine ?

Henri Guerin décide de créer une équipe pour fabriquer le lasure. Il fait appel à son réseau relationnel pour trouver des capitaux, ce qui lui permet de disposer d'un outil de production et de commercialisation. Les ventes décollent et l'activité devient bénéficiaire, événements représentés sur la figure 1.

Observant l'irruption de ce nouveau produit (P1), des fabricants de peinture mettent sur le marché des produits concurrents (P2, P3), avec pour effet le ralentissement des ventes de P1. Henri Guerin décide sur la suggestion d'un de ses commerciaux de substituer au produit liquide P1 qui coule trop facilement, un produit « gélifié » plus facile à utiliser (P') : les ventes redémarrent. Quelques années plus tard, compte tenu des préoccupations environnementales, il remplace les hydrocarbures de la formulation par un mélange hydrophile, à moindre odeur (P''), ce qui est apprécié par le marché.

Mais un jour, son « nouveau produit » sera lui aussi dépassé.

Stratégies

Henri Guerin a choisi une *stratégie de leader*. Ses concurrents ont choisi *de facto* de suivre le leader, en espérant profiter de ses erreurs et le copier. Le cas développé ici est un exemple idéal, car de nombreuses tentatives tournent court, y compris dans des entreprises ayant eu précédemment de brillants succès. C'est ainsi que DuPont, à qui on doit le Nylon®, se basant sur une crainte de pénurie de cuir dans le monde, a lancé vers 1967 sur le marché le Corfam qui, lui, n'est plus fabriqué. C'est qu'en effet pour réussir une innovation technologique, il est nécessaire de disposer des moyens appropriés, mais aussi d'utiliser des méthodes rappelées sur la figure 2. Quant aux étapes, on s'en doute, elles sont en fait moins séquentielles.

Le processus d'innovation n'est jamais fini ; dans une entreprise particulièrement innovatrice comme SNF, des dizaines de nouveaux produits sont mis chaque année sur le marché, pour un catalogue de mille produits.

L'innovation technologique n'a lieu que si elle est portée par un inventeur, esprit non conformiste, qui transcende l'état actuel des connaissances techniques et du marché, et un développeur, qui effectue la symbiose entre le techniquement possible et le socio-économiquement désiré – ces fonctions pouvant d'ailleurs se retrouver chez une seule personne ayant une santé de fer et une capacité de travail prolongée. Il faut certes des hommes spécifiques, mais aussi, on s'en doute, un patrimoine et un savoir-faire technologiques efficaces, à la condition qu'ils œuvrent dans une structure innovatrice. Cette dernière est caractérisée par une stratégie

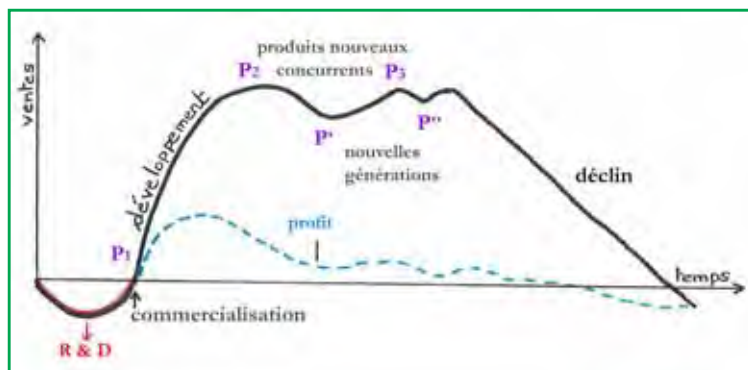


Figure 1 - Le cycle de vie d'une innovation.

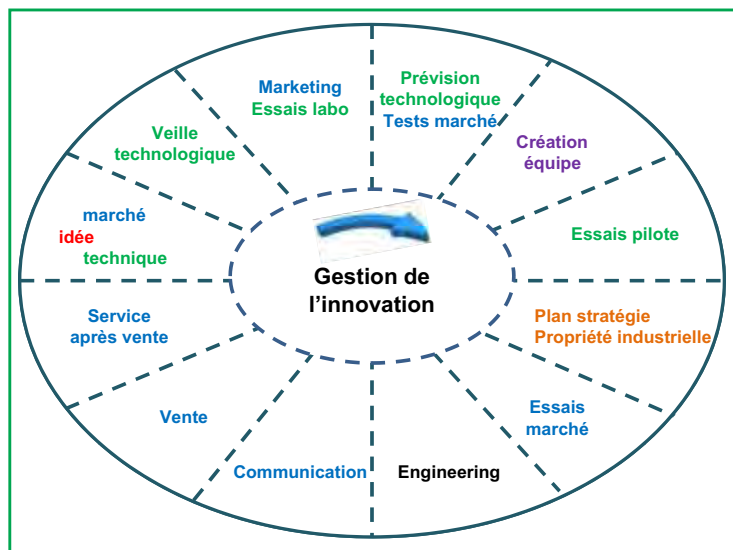


Figure 2 - La gestion de l'innovation.

ournée vers l'innovation technologique. Elle doit savoir faire collaborer des êtres ayant des qualités quelque peu antinomiques : l'hyperspécialisation et une vaste culture, le sens de la performance technologique et le sens économique, le goût du risque et la prudence, la célérité et la patience, le sens de la communication et celui du secret.

Les perspectives de création de valeur importante rappelées ci-dessus attirent des investisseurs tels les « business angels » et autres ventures capitalistes qui peuvent aussi apporter des contacts commerciaux comme le premier client... Ils savent bien que « *no risk, no reward* ». En effet, si toute activité économique implique un risque, ce dernier est amplifié, on s'en doute, lorsque de surcroît s'ajoute à l'incertitude commerciale le risque technologique inhérent à l'innovation technologique. Par exemple, sera-t-il possible d'obtenir au stade de l'exploitation les résultats techniques obtenus au stade du laboratoire, voire même du pilote ? Pour abaisser le risque inhérent à l'innovation technologique, il faut utiliser les méthodes mentionnées sur la figure 2, à savoir :

- la prévision technologique, en observant en particulier ce qu'il se passe dans des branches industrielles davantage high tech ;
- le marketing du nouveau produit, en restant vigilant vis-à-vis des études menées de façon incomplète, biaisée...
- l'élaboration d'un plan plus ou moins formalisé dans lequel la démarche prospective est associée à l'extrapolation de tendances utilisées pour le court terme ;
- la publicité du nouveau produit, qui peut bénéficier de l'aide gracieuse de nombreux supports autres que les médias ;
- la protection du patrimoine technologique par le secret et par les outils de « propriété industrielle » : pli cacheté (qui protège le droit d'exploiter sans divulgation d'informations), demande de brevet d'invention (dont l'inconvénient est une divulgation, certes avec un décalage intéressant), de modèle, marque. Ces biens immatériels peuvent faire l'objet de cessions ou de concessions. Il est avisé dans ce domaine à la frontière du droit et de la technologie de faire appel à des « conseils en propriété industrielle ».

On pouvait lire le 28 mai 1890 dans *La Dépêche* de Toulouse : « [...] ce qu'ils veulent avant tout c'est gagner la bataille [...] ils sont heureux [...] que leur peine ardente [...] n'est pas perdue, qu'il y a un résultat positif palpable » [1]. Il est opportun aussi de citer Keynes, banquier avisé : « La plupart des décisions à effectuer quelque chose de constructif proviennent d'un élan vital, c'est-à-dire d'un ardent désir d'action et non pas du produit d'un calcul. » C'est une raison supplémentaire pour utiliser les méthodes brièvement rappelées ici, d'une part pour choisir les projets d'innovation technologique les plus prometteurs, d'autre part pour diminuer le risque inhérent à la transformation d'une idée technologique en un nouveau produit.

D'une manière générale, l'amélioration de notre vie quotidienne dépend de leur mise en œuvre. **Innovons plus, mais innovons mieux ! [1-2].**

[1] Pichat P., *L'innovation*, Chotard Ed., 1989.

[2] Pichat P., *Innovez plus, innovez mieux*, Chotard Ed., 1992.



Ingénieur et docteur en sciences, Philippe Pichat fait partie de l'équipe de Sarp Industries fondatrice des activités du recyclage-traitement des déchets dangereux et maintenant implantée dans huit pays.

Courriel : philippe.pichat@gmail.com

XXIX^{es} Olympiades Nationales de la Chimie 2013

Chimie et sport

➔ **Des épreuves régionales** dès janvier 2013

➔ **Deux concours**

- Scientifique, les 10 et 11 avril 2013
- Communication, le 11 avril 2013

www.olympiades-chimie.fr

L'éthylotest

Lydie Valade, Jean-Louis Pellegatta et Pierre Fau

Résumé	Les éthylotests et éthylomètres sont des détecteurs d'éthanol qui mettent en œuvre des réactions chimiques ou utilisent des propriétés physico-chimiques de la molécule d'éthanol pour évaluer l'alcoolémie. Cet article explique leur fonctionnement.
Mots-clés	Éthylotest, éthanol, capteurs d'éthanol.
Abstract	Breath-alcohol testing Breathalyzers are ethanol sensors that implement chemical reactions or use physico-chemical properties of the ethanol molecule to evaluate breath-alcohol concentration. How do they work?
Keywords	Breath-alcohol testing, ethanol, ethanol sensors.

Le décret n° 2012-284 du 28 février 2012 prévoit l'obligation de détenir un éthylotest à bord de son véhicule à compter du 1^{er} juillet 2012 [1]. Les conducteurs ont la possibilité d'acquérir des éthylotests à usage unique ou des éthylomètres électroniques. Les éthylotests et éthylomètres sont des détecteurs d'éthanol. Ils mettent en œuvre des réactions chimiques ou utilisent des propriétés physico-chimiques de la molécule d'éthanol pour évaluer l'alcoolémie. Comment fonctionnent-ils ?

© Éric Franchi (professeur d'arts plastiques, Collège de Plaisance-du-Touch, Haute-Garonne).



Le parcours de l'alcool dans l'organisme

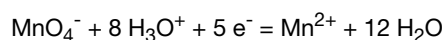
L'alcool contenu dans les boissons est l'éthanol, C_2H_5OH . Il n'est pas transformé dans le tube digestif et passe dans le sang très rapidement après l'ingestion [2]. La concentration maximale dans le sang, appelée alcoolémie, est atteinte en une demi-heure lorsqu'on est à jeun et en une heure quand on mange. Plus soluble dans l'eau que dans les graisses, l'alcool se répand dans l'organisme par la circulation sanguine et se concentre au niveau du cerveau, du foie, du cœur, des reins et des muscles. Il est plus concentré dans le lait maternel que dans le sang. Si 5 % de l'alcool contenu dans le sang sont évacués par la sueur, les urines et l'air expiré, c'est dans le foie que la majeure partie (95 % de la quantité ingérée) est éliminée à une vitesse moyenne de 0,17 g/L_{sang}/heure [3]. La métabolisation de l'éthanol dans le foie est principalement assurée par deux enzymes : l'alcool déshydrogénase (ADH) intervient dans la conversion de l'éthanol en éthanal, qui est ensuite transformé en acétate par l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH) [4].

L'évaluation de l'alcoolémie

L'alcoolémie est la concentration d'éthanol dans le sang et s'exprime en g_{éthanol}/L_{sang}. Son estimation à partir d'une mesure sur l'air expiré est fondée sur la loi de Henry qui dit que la pression partielle p_i d'une substance volatile, qui traduit sa concentration dans l'air au-dessus d'un liquide, est proportionnelle à sa fraction molaire x_i dans le liquide qui la contient : $p_i = x_i \times H_i$, où H_i est la constante de Henry qui est spécifique

de la substance considérée. Ainsi, l'alcoolémie est exactement proportionnelle à la concentration d'éthanol dans l'air expiré qu'indiquent les éthylotests : 0,25 mg_{éthanol}/L_{air expiré} correspond à une alcoolémie de 0,5 g/L (voir encadré 1).

Le dosage de l'éthanol dans le sang est la méthode la plus fiable d'évaluation de l'alcoolémie. Elle impose toutefois des contraintes ne permettant pas une évaluation rapide sur le terrain. L'analyse de l'alcool dans l'air expiré s'est donc développée très tôt : le premier instrument, le « Drunkometer », a été mis au point par Rolla N. Harger de l'Université d'Indiana en 1938 [5]. Pour utiliser le Drunkometer, la personne testée soufflait dans un ballon. L'air contenu dans le ballon était ensuite envoyé au travers d'une solution de permanganate de potassium dans l'acide sulfurique. La présence d'alcool dans l'haleine provoquait le changement de couleur de la solution suite à la réduction du permanganate (violet) en ions Mn^{2+} (incolores) :



Cependant, le matériel était encombrant et l'évaluation se faisait en fonction de la coloration de la solution par comparaison à une échelle de référence. Le premier équipement réellement compact, mais pas encore portable car il mettait en œuvre des solutions, fut le « Breathalyzer », créé en 1954 par un autre professeur de l'Université d'Indiana, Robert F. Borkenstein. Cet équipement, ancêtre de l'éthylotest jetable actuel, utilisait le dichromate de potassium en milieu acide sulfurique [6].

Encadré 1**Calculer son alcoolémie**

L'alcoolémie T (en g_{éthanol}/L_{sang}) peut être évaluée en utilisant la formule suivante :

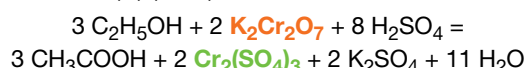
$$T = \frac{V \times P \times 0,8}{K \times M}$$

avec V = volume de boisson (en mL) ; P = concentration de la boisson en éthanol : 5 % → 5 mL pour 100 mL → $P = 0,05$; 0,8 = masse volumique de l'éthanol (en g/mL) ; K = coefficient tenant compte du milieu de diffusion de l'éthanol qui est majoritairement l'eau de notre corps : 0,7 L/kg pour un homme et 0,6 L/kg pour une femme. La teneur moyenne en eau du corps d'une femme adulte est inférieure à celle d'un homme adulte ; M = masse de la personne (en kg). Par exemple, une femme de 55 kg ayant bu 500 mL de bière à 5 % a une alcoolémie de 0,6 g/L.

De nombreux équipements ont succédé au Drunkometer et au Breathalyzer. Grâce au développement des techniques analytiques et à la fabrication de capteurs intégrables dans des dispositifs miniaturisés, ils atteignent de bonnes performances et offrent une réelle praticité [7].

L'éthylotest à usage unique

Le détecteur d'éthanol de l'éthylotest à usage unique est le dichromate de potassium. En présence d'éthanol et en milieu acide, les ions dichromates (jaunes) sont réduits en ions chrome(III) (verts) :



Lors d'un test, le ballon contenant l'air expiré par le conducteur est dégonflé au travers d'un tube qui contient un solide cristallisé constitué de dichromate de potassium et d'acide sulfurique adsorbés sur un gel de silice. La présence d'éthanol est repérée par le changement de couleur du dichromate de potassium jaune qui devient vert lorsqu'il est réduit en sel de chrome(III). Le taux de transformation est proportionnel à la concentration en éthanol de l'air expiré. Le trait noir dessiné sur le tube matérialise la quantité de dichromate de potassium transformée par une quantité d'éthanol correspondant à la limite légale de concentration de 0,25 mg/L d'air expiré (alcoolémie de 0,5 g/L) (figure 1).

Les éthylomètres électroniques

Contrairement à l'éthylotest à usage unique, les éthylomètres électroniques sont réutilisables et fournissent une

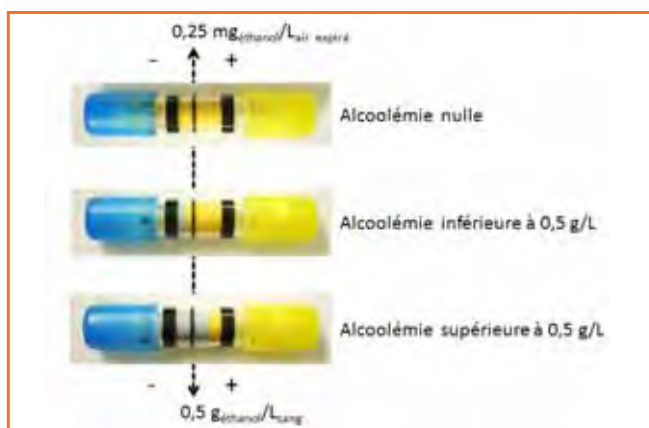


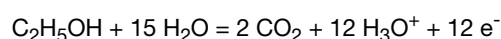
Figure 1 - L'éthylotest change de couleur en fonction de l'alcoolémie.

information quantitative. Ils utilisent plusieurs types de capteurs [8] : des capteurs électrochimiques, à semi-conducteurs, ou à détection par infrarouge. Ils doivent être vérifiés une fois par an par l'utilisation de mélanges de gaz spécifiquement préparés pour leur calibration [9].

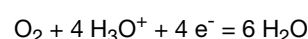
Capteurs électrochimiques

Les modèles d'éthylomètres utilisant des capteurs électrochimiques sont principalement équipés de cellules fonctionnant sur le principe de la pile à combustible dans laquelle le dihydrogène est remplacé par l'éthanol (figure 2). Ce type de capteur contient une cellule électrochimique au sein de laquelle se produisent les réactions suivantes :

- Oxydation de l'éthanol à l'anode :



- Réduction du dioxygène à la cathode :



- Réaction globale :

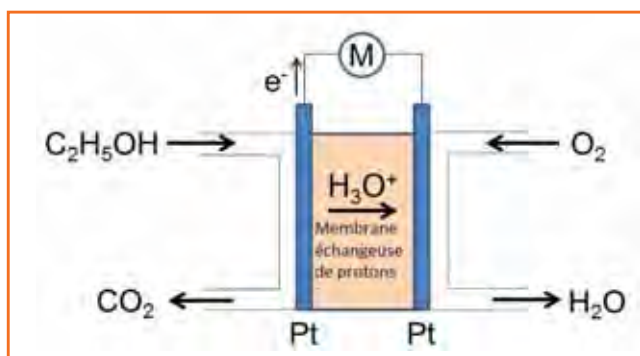
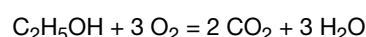
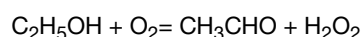


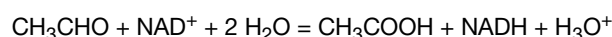
Figure 2 - Principe d'une pile à combustible à éthanol.

À l'anode, l'éthanol contenu dans l'air expiré est oxydé en dioxyde de carbone sur une couche de catalyseur. Les protons produits à l'anode sont transportés au travers d'une membrane échangeuse de protons vers la cathode où ils réagissent avec le dioxygène pour produire de l'eau. Les électrons sont transportés via un circuit externe de l'anode vers la cathode. La pile débite dès lors que l'éthanol est présent et l'intensité du courant est directement liée à la concentration d'éthanol dans l'air expiré.

Des biocapteurs ont été également mis au point pour la détection d'éthanol. À l'instar de la réaction de métabolisation de l'éthanol par le foie, ils exploitent le changement de concentration en oxygène ou la formation d'eau oxygénée intervenant dans la réaction biochimique d'oxydation de l'éthanol en éthanal catalysée par l'enzyme alcool oxydase (AO) :



Ils permettent également de suivre l'oxydation de l'éthanal en acide acétique catalysée par l'enzyme aldéhyde déshydrogénase (ALDH). Les biocapteurs détectent la forme réduite de la nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) produite par la réaction suivante :



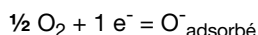
Les travaux sur ces biocapteurs portent sur l'immobilisation de l'enzyme AO par sérigraphie sur des supports comme

des membranes de nitrocellulose [10] ou de papier [4] qui permettent d'envisager leur intégration dans des équipements portables d'analyse de l'air expiré. Les équipements utiliseront des bandelettes jetables comme ceux commercialisés pour le contrôle de la glycémie.

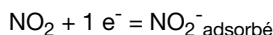
Capteurs à semi-conducteurs

Les modèles d'éthylomètres électroniques à capteurs à semi-conducteur, aussi appelés capteurs de gaz, sont les plus répandus. Ils sont constitués d'une couche de matériau semi-conducteur dont la composition chimique est modifiée en présence de gaz oxydants ou réducteurs [8]. Les oxydes métalliques constituent la majorité des matériaux appliqués dans ces capteurs. Ces oxydes peuvent présenter des écarts à la stœchiométrie se traduisant par des lacunes ou des excès en ions métalliques ou en oxygène (O^{2-}). L'un des plus utilisés, le dioxyde d'étain, a tendance à être sous-stœchiométrique en oxygène, ce qui conduit à l'écriture SnO_{2-x} . L'écart à la stœchiométrie est à l'origine de son comportement semi-conducteur de type n. Le dioxyde d'étain est sensible à la présence de gaz, car ceux-ci, en s'adsorbant à sa surface, viennent y modifier la concentration d'électrons. Par exemple, lorsque la température est assez élevée ($> 150\text{ }^{\circ}\text{C}$), l'oxygène moléculaire physisorbé se chimisorbe sous forme O_2^- et peut se dissocier ensuite en espèce O^- . À encore plus haute température, on trouve les espèces O^{2-} qui peuvent intégrer le réseau.

En présence de dioxygène (gaz oxydant) :



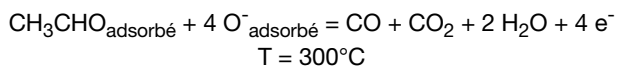
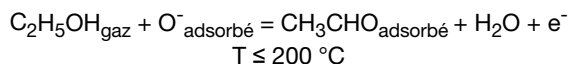
En présence de dioxyde d'azote (gaz oxydant) :



En présence de monoxyde de carbone (gaz réducteur) :



Ainsi, en présence d'un gaz oxydant ou d'un gaz réducteur, la modification de la proportion d'espèces $O^-_{\text{adsorbé}}$ en surface entraîne une variation des propriétés électriques du matériau qui est mise à profit pour la détection de gaz. L'éthanol étant réducteur, sa présence dans l'air expiré va produire une augmentation de la concentration d'électrons dans le dioxyde d'étain, donc une augmentation de la conductivité du matériau. En présence de vapeurs d'éthanol (gaz réducteur), de nombreuses voies réactionnelles en surface de la couche sensible sont possibles, notamment en fonction de la température. Les réactions suivantes ont par exemple été identifiées [11] :



L'acétaldéhyde $CH_3CHO_{\text{adsorbé}}$ résultant de la déshydrogénation de l'éthanol est identifié à $T \leq 200\text{ }^{\circ}\text{C}$. À $300\text{ }^{\circ}\text{C}$, il se décompose en CO , CO_2 et H_2O . En fonctionnement, les capteurs doivent donc être chauffés à $300\text{ }^{\circ}\text{C}$. Par ailleurs, la surface spécifique du matériau étant d'autant plus grande que celui-ci est finement divisé, les capteurs de gaz à semi-conducteurs nanoparticulaires sont parmi les plus sensibles [12-14] (voir encadré 2).

L'incorporation de nanomatériaux dans des capteurs électrochimiques et des biocapteurs a été étudiée [15]. Des

résultats récents rapportent des capteurs d'éthanol comprenant des électrodes de platine modifiées par des nanotubes de carbone chargés en nanoparticules d'oxyde de nickel et offrant de bonnes limites de détection [16].

Capteurs à détection par infrarouge

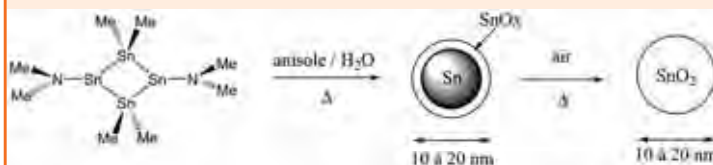
Les éthylomètres à détection par infrarouge sont reconnus comme étant les plus fiables et ceux donnant les mesures les plus exactes. Comme les précédents, ils mesurent la concentration d'éthanol par analyse de l'air expiré. Leur fonctionnement repose sur l'absorption d'un faisceau de radiation infrarouge monochromatique de longueur d'onde $9,4\text{ }\mu\text{m}$ ($1\,063\text{ cm}^{-1}$) correspondant à la vibration d'élongation de la liaison C–O de la molécule d'éthanol [17]. L'absorption suit la loi de Beer-Lambert qui établit que l'absorption d'un faisceau de lumière monochromatique dans un milieu homogène et isotrope est proportionnelle à la longueur du trajet optique suivi par cette radiation et à la concentration (en solution) ou la pression partielle (en phase gazeuse) des espèces absorbantes (voir encadré 3). Pour effectuer la mesure, un échantillon d'air expiré est prélevé et envoyé dans la cuve d'analyse qui est traversée par le faisceau infrarouge. L'intensité I_0 du faisceau en l'absence d'air expiré et l'intensité I du faisceau en présence d'air expiré sont reçues par un détecteur pyroélectrique. Les signaux du détecteur sont traduits en tensions qui sont directement proportionnelles à l'intensité du rayonnement reçu. La tension de sortie, également proportionnelle à la différence $I - I_0$, permet de calculer la concentration d'éthanol dans le gaz.

Encadré 2

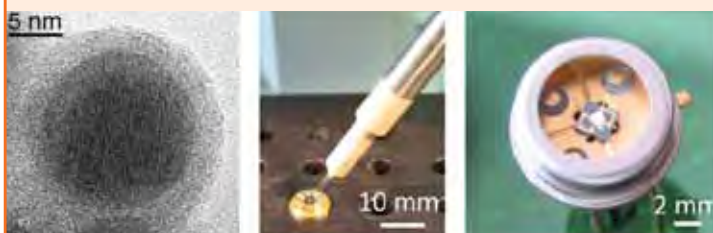
Capteur de gaz à nanoparticules de dioxyde d'étain [13]

La synthèse des nanoparticules de dioxyde d'étain de taille contrôlée suit plusieurs étapes :

- thermolyse de la molécule précurseur en atomes d'étain dans un solvant ;
- agrégation des atomes formés en nanoparticules d'étain/ SnO_x ;
- contrôle de la taille des nanoparticules en présence d'un stabilisant limiteur de croissance, dans le cas présent par le contrôle de la teneur en eau dans le milieu réactionnel ;
- oxydation sur la puce des nanoparticules d'étain/ SnO_x en nanoparticules de dioxyde d'étain.



Synthèse des nanoparticules de dioxyde d'étain.



De gauche à droite : image par microscopie électronique à transmission à haute résolution (HRMET) d'une nanoparticule de Sn/SnO_x , intégration des nanoparticules sur une plate-forme de silicium et capteur prêt à fonctionner (puce Microchemical Systems MiCS).

Encadré 3

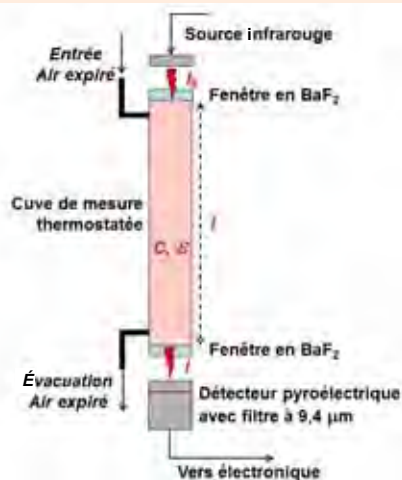
Loi de Beer-Lambert :
application à l'éthylomètre

La loi de Beer-Lambert s'écrit :

$$I = I_0 \times e^{-\varepsilon \cdot l \cdot C}$$

$$\text{ou } A_\lambda = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon_\lambda \cdot l \cdot C$$

avec A = absorbance ou densité optique à une longueur d'onde λ (9,4 μm pour l'éthylomètre) ; I_0 = intensité du faisceau infrarouge incident, en l'absence d'éthanol sur le trajet optique ; I = intensité du faisceau en présence du gaz analysé ; ε = coefficient d'extinction molaire de l'éthanol (il dépend de la longueur d'onde et de la température) ; l = longueur du trajet optique dans le gaz traversé (elle correspond à l'épaisseur de la cuve utilisée) ; C = concentration molaire en éthanol du gaz analysé.



Les détecteurs d'éthanol que nous avons décrits sont installés sur les équipements commercialisés en France qui diffèrent toutefois significativement les uns des autres par leur coût : de l'ordre de l'euro pour l'éthylomètre jetable, à quelques centaines d'euros pour les modèles électroniques grand public et à quelques dizaines de milliers d'euros pour les modèles professionnels fixes équipant gendarmeries et postes de police.

Nous encourageons la mise en place d'un recyclage organisé des modèles jetables, que ce soit après leur utilisation ou au-delà de leur date de péremption (voir encadré 4), à l'instar de celui des piles et ampoules basse consommation. Les modèles électroniques contiennent des capteurs dont la durée de vie est d'une dizaine d'années, mais qui doivent aussi être éliminés via la filière des matériels électroniques à l'occasion de leur remplacement.

Dans tous les cas, n'oubliez pas : boire ou conduire, il faut choisir !

Les auteurs remercient Maurice Comtat et Gérard Férey pour leurs conseils.

Références

- [1] www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000025417826&
- [2] <http://faiteslafete.univ-lorraine.fr/index.php?id=176>
- [3] Pavlic M., Grubwieser P., Libiseller K., Rabl W., Elimination rates of breath alcohol, *Forensic Sci. Intern.*, **2007**, 171, p. 16.
- [4] Gessei T., Sato H., Kazawa E., Kudo H., Saito H., Mitsubayashi K., Biosniffers for ethanol and acetaldehyde using carbon and Ag/AgCl coated electrodes, *Microchim. Acta*, **2009**, 165, p. 179.
- [5] Harger R.N., Lamb E.B., Hulpieu R.R., A rapid chemical test for intoxication employing breath, *J. Amer. Med. Assoc.*, **1938**, 110(11), p. 779.

Encadré 4

Toxicité et recyclage

Il faut 1,06 mg de dichromate de potassium pour oxyder 0,25 mg d'éthanol. Chaque éthylomètre jetable contient donc environ 3 à 4 mg de dichromate de potassium. Ce composé du chrome(VI) est classé cancérigène, mutagène et reprotoxique (CMR) par de nombreux organismes, à commencer par l'European Chemicals Agency (ECHA) en charge de REACH (EC number : 231-906-6). Suite à la nouvelle réglementation routière, on peut estimer le nombre d'éthylomètres en circulation en France à 80 millions par an (la date de validité étant d'une année), soit 300 kg de dichromate de potassium... qui certes seraient disséminés sur tout le territoire national, mais rejoindraient donc poubelles puis usines d'incinération. En date du 16 juillet 2012, l'ONG Robin des Bois a appelé les Ministères de l'Écologie et des Transports à mettre en place une filière de récupération des éthylomètres usagés et périmés [18].

- [6] Borkenstein R.F., Smith H.W., The Breathalyzer and its application, *Medicine, Science and the Law*, **1961**, 2(1), p. 13 ; <http://breathalyzer.org/history.html>.
- [7] Mason M.F., Dubowski K.M., Breath-alcohol analysis: uses, methods, and some forensic problems - Review and opinion, *J. Forensic Sci.*, **1976**, 21(1), p. 9.
- [8] Jaffrezic-Renault N., Pijolat C., Pauly A., Brunet J., Varenne C., Bouvet M., Fabry P., Les matériaux pour les capteurs chimiques, *L'Act. Chim.*, **2002**, 251, p. 157.
- [9] Pratzler S., Knopf D., Ulbig P., Scholl S., Preparation of calibration gas mixtures for the measurement of breath alcohol concentration, *J. Breath Res.*, **2010**, 4, p. 036004.
- [10] Alferor V.A., Zaitsev M.G., Ponomarev O.N., Kuznetsova T.A., Rogova T.V., Reshetilov A.N., An alcohol oxidase-based electrochemical sensor for the rapid determination of lower alcohol, *J. Anal. Chem.*, **2011**, 66(12), p. 1205.
- [11] Cheong H.W., Lee M.J., Sensing characteristics and surface reaction mechanism of alcohol sensors based on doped SnO₂, *Journal of Ceramic Processing Research*, **2006**, 7, p. 183.
- [12] Chaudret B., Chimie organométallique et nanoparticules, *L'Act. Chim.*, **2005**, 290-291, p. 33.
- [13] Nayral C., Viala E., Fau P., Senocq F., Jumas J.C., Maisonnat A., Chaudret B., Synthesis of tin and tin oxide nanoparticles of low size dispersity for application in gas sensing, *Chemistry-a European Journal*, **2000**, 6, p. 4082.
- [14] Nayral C., Maisonnat A., Chaudret B., Fau P., Method of forming metal colloids, metal colloids and method of forming a metal oxide sensitive layer for a chemical sensor device, European patent EP 0947245 (05/02/1998) ; US patent 6395053 (28/05/2002).
- [15] Yogeswaran U., Chen S.-M., A review on the electrochemical sensors and biosensors composed of nanowires as sensing materials, *Sensors*, **2008**, 8, p. 290.
- [16] Adekunle A.S., Oluwafemi O.S., Ncapayi V., Sadiku R.E., Agee J.T., Ojo S.O., Songca S.P., Ethanol sensor based on platinum-MWCNT-NiO nanoparticles platform electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2012**, 7, p. 2695.
- [17] Laboratoire national de métrologie et d'essais, Certificats d'examen d'instruments destinés à mesurer la concentration d'alcool dans l'air expiré.
- [18] www.societechimiquedefrance.fr/IMG/pdf/2012_n_14.pdf ; www.maisondelachimie.asso.fr/chimiesociete ; www.robindesbois.org/communiqués/dechet/recyclage/2012/REP-ethylomètres.html



L. Valade



J.-L. Pellegatta



P. Fau

Lydie Valade

est directrice de recherche au CNRS, Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC) de Toulouse*, et présidente de la Commission Chimie et Société**.

Jean-Louis Pellegatta

est maître de conférences à l'Université Toulouse 3-Paul Sabatier (LCC)* et anime Chimie et Société Midi-Pyrénées.

Pierre Fau

est ingénieur de recherche de l'Université Toulouse 3-Paul Sabatier (LCC)*.

* Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS, BP 44099, 205 route de Narbonne, F-31077 Toulouse Cedex 4.
Courriels : lydie.valade@lcc-toulouse.fr
jean-louis.pellegatta@lcc-toulouse.fr
pierre.fau@lcc-toulouse.fr

** www.maisondelachimie.asso.fr/chimiesociete

Les polysaccharides amphiphiles auto-associatifs

De la chimie à l'encapsulation de principes actifs

Leila N. Hassani, Frédéric Hendra et Kawthar Bouchemal

Résumé Les polysaccharides sont très largement utilisés pour encapsuler des principes actifs en raison de leurs nombreux avantages. Sur les chaînes polysaccharidiques hydrophiles, il est possible de fixer des groupements hydrophobes afin de les rendre amphiphiles. Ces groupements hydrophobes permettent à ces systèmes de s'auto-associer en milieu aqueux sous forme de nano-agrégats, de micelles polymères ou d'hydrogels. Particulièrement, le chitosane amphiphile a fait l'objet de plusieurs travaux et les modifications chimiques apportées sur son squelette polysaccharidique ont permis d'élargir ses domaines d'applications, contribuant à l'amélioration de sa solubilité en milieu aqueux. Cet article expose les principaux travaux de recherche concernant la chimie des polysaccharides amphiphiles et leur intérêt dans l'encapsulation de principes actifs.

Mots-clés Polymères amphiphiles, polysaccharides, chitosane, encapsulation, principe actif.

Abstract **Self-assembled amphiphilic polysaccharides: from chemistry to drug encapsulation** Polysaccharides are largely used as drug delivery system due to their numerous advantages. Interestingly, it was possible to synthesize amphiphilic polysaccharides by grafting hydrophobic groups on their polysaccharidic chains. The hydrophobic groups allow these polymeric systems to self-associate in aqueous media to form nano-aggregates, polymeric micelles, or hydrogels. Particularly, amphiphilic chitosan was the subject of many research works.

Keywords Amphiphilic polymers, polysaccharides, chitosan, encapsulation, active ingredient.

À l'heure actuelle, les systèmes vecteurs à base de polysaccharides sont largement utilisés pour des applications biomédicales [1]. Cependant, la nécessité dans certains cas de faire appel à des solvants organiques (pour la nano-précipitation) et/ou à des variations de pH très acides (pour les techniques de polymérisation en émulsion des alkylcyanoacrylates par exemple) représente un obstacle d'un point de vue formulation. Pour palier à ces inconvénients, les polysaccharides peuvent être modifiés chimiquement par le greffage de groupements hydrophobes. Ces polysaccharides, rendus amphiphiles, sont capables de s'auto-associer en milieu aqueux sous forme de micelles polymères de type cœur-couronne, de nanoparticules, de microparticules [2], de liposomes [3-5] et d'hydrogels. Le cœur hydrophobe de ces structures peut alors être utilisé pour solubiliser et encapsuler des principes actifs ayant une faible solubilité en milieux aqueux alors que la couronne hydrophile permet l'adsorption de molécules hydrophiles.

Les polysaccharides amphiphiles auto-associatifs

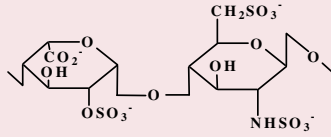
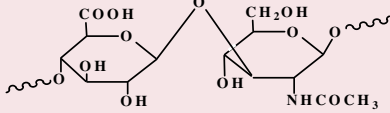
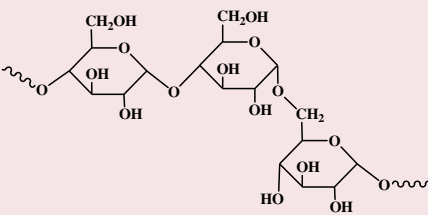
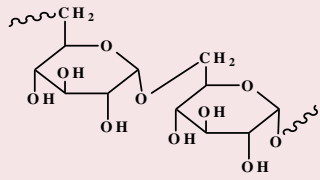
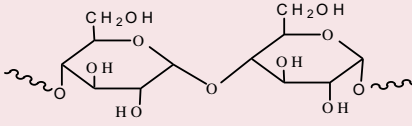
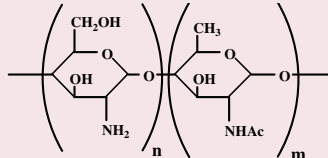
Les polysaccharides sont des macromolécules glucidiques formées par l'enchaînement d'un grand nombre de sucres élémentaires hydrophiles. Sur les chaînes hydrophiles des polysaccharides, il existe plusieurs groupements de différentes masses molaires et compositions chimiques. La nature de ces groupements permet de différencier les

polysaccharides d'un point de vue structural et entraîne une différence au niveau de leurs propriétés physico-chimiques et biologiques [6]. Certains polysaccharides tels que le dextrane et les cyclodextrines ont une charge neutre ; d'autres tels que le chitosane sont chargés positivement grâce à la présence des fonctions amines facilement protonables. Enfin, des polysaccharides tels que l'alginate, l'héparine, l'acide hyaluronique et la pectine sont chargés négativement (tableau 1). Les polysaccharides peuvent être linéaires tels que le dextrane, le chitosane, l'acide hyaluronique, etc., ou cycliques telles les cyclodextrines. Nous nous intéresserons ici plus particulièrement aux polysaccharides linéaires.

Les différents groupements chimiques qui ornent le squelette des polysaccharides ont permis de les rendre plus réactifs d'un point de vue chimique. Ainsi, ils ont fait l'objet de différentes modifications chimiques qui ont principalement porté sur les groupements de types hydroxyle, carboxyle et amine. Plusieurs études ont montré que les polysaccharides rendus amphiphiles par le greffage de chaînes hydrophobes s'auto-associent spontanément en milieux aqueux pour former des structures de type cœur-couronne. Cette association survient au-delà d'une concentration appelée « concentration d'agrégation critique » (CAC). Il est utile de rappeler que les micelles polymères ont une taille inférieure à 100 nm et les nano-agrégats, une taille supérieure à 100 nm. Les CAC des polysaccharides amphiphiles peuvent être mesurées par différentes méthodes telles que la mesure de tension superficielle [7] ou la spectroscopie de fluorescence du pyrène [8].

Tableau I - Structures chimiques des polysaccharides usuels utilisés pour former des systèmes vecteurs, et molécules hydrophobes utilisées pour modifier ces polysaccharides.

PA : principes actifs (- : pas de principe actif encapsulé décrit dans la littérature).

Polysaccharides	Structures chimiques	Molécules hydrophobes utilisées	Particules formées	PA
Héparine		Acide désoxycholique	Nanoparticules (120-200 nm) [20]	-
Acide hyaluronique		DOPE	Lipoplexes [11]	ADN
Pullulane		Cholestérol	Micelles (8,4-13,7 nm) [13]	-
Dextrane		Acide cholique Acide désoxycholique	Agrégats (130 nm) [9]	BSA
Amylose		Acide linoléique	Agrégats ayant une structure allongée (150 nm) ou ronde (43-150 nm) [19]	-
Chitosane		Acide linoléique	Nanoparticules [33]	-

Glossaire

Les termes suivis d'un astérisque* dans le texte sont définis ci-dessous.

Lipoplexe : complexe ADN-liposome cationique utilisé comme vecteur en thérapie génique.

Potentiel zêta : correspond au potentiel situé entre la couche d'ions adhérents au colloïde et la couche dite diffuse ; il se mesure par électrophorèse. La présence de charges à la surface des particules attire les ions en solution dans l'eau, ceux-ci attirant à leur tour d'autres ions. Il existe alors entre cette double couche ionique formée un potentiel électrostatique mesurable appelé potentiel zêta reflétant en quelque sorte la stabilité des particules.

Réticulation : opération qui consiste à former des liaisons entre des chaînes polymères.

Superparamagnétisme : le superparamagnétisme apparaît lorsque des matériaux ferromagnétiques existent sous forme suffisamment petite et en dessous de la température de Curie. En effet, au-dessus de cette température, le matériau existe sous forme désordonnée dite paramagnétique, alors qu'en dessous de celle-ci, le corps s'organise en domaine ferromagnétique. Quand ces derniers sont petits, ils se comportent alors comme un macrospin réagissant au champ extérieur et à la température comme une substance paramagnétique, bien qu'ici cela soit un corps ferromagnétique.

Le cœur de ces micelles polymères ou nano-agrégats est hydrophobe, alors que leur couronne est hydrophile. Dans certaines conditions de concentration du polysaccharide amphiphile et de degré de substitution par des groupements hydrophobes, des hydrogels peuvent être formés, offrant ainsi un intérêt majeur d'un point de vue formulation.

Les différents polysaccharides amphiphiles synthétisés et les structures formées lorsqu'ils s'auto-associent en milieu aqueux sont détaillés ci-après.

Le dextrane amphiphile et ses dérivés

Dans l'étude présentée par Nichifor *et coll.* [9], le dextrane de masse molaire avoisinant 30 000 g/mol a été greffé avec les acides biliaires (acide cholique ou désoxycholique) à des degrés de substitution (DS) allant de 2 à 6 % (moles d'acide biliaire/100 unités de glucopyranose), en présence d'un agent de couplage, le *N,N*-dicyclohexylcarbodiimide, et de pyridine comme agent catalyseur.

À l'issue de cette réaction, le dextrane amphiphile s'auto-associe à partir d'une concentration de 0,2 mg/mL et forme

des agrégats de 130 nm de taille moyenne pour le dextrane greffé avec 4 % d'acide cholique et de 150 nm de taille moyenne pour le dextrane greffé avec 3,6 % d'acide désoxycholique. Ces agrégats résulteraient des interactions hydrophobes entre les résidus d'acides biliaires d'une même molécule de dextrane.

Cependant, au-delà d'une concentration de 6 mg/mL, le dextrane amphiphile ne se structure plus sous forme d'agrégats. En effet dans ces conditions de concentration, des domaines hydrophobes compacts se forment grâce à des interactions intra- et intermoléculaires regroupant deux à trois molécules de dextrane amphiphile [9].

L'acide hyaluronique amphiphile et ses dérivés

L'acide hyaluronique a été lié chimiquement au dioléoylphosphatidyléthanolamine (DOPE) (figure 1) en présence d'un agent de couplage, le chlorure du 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC), pendant 24 heures à 37 °C. Une étape d'ultrafiltration permet d'éliminer l'agent de couplage et le DOPE qui n'ont pas réagi [10]. Le composé obtenu a permis de préparer des liposomes cationiques qui sont des vésicules sphériques constituées d'au moins une couche lipidique. Ce type de liposomes a été utilisé afin de former des complexes avec l'acide désoxyribonucléique (ADN). Ces complexes ADN-liposomes, encore appelés lipoplexes*, sont utilisés en thérapie génique [11-12].

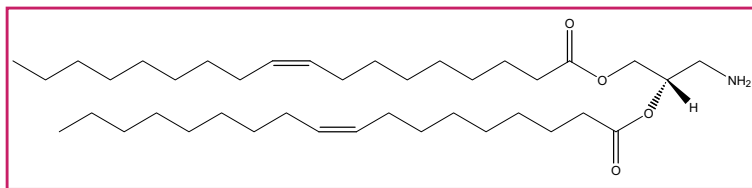


Figure 1 - Structure de la dioléoylphosphatidyléthanolamine (DOPE).

Le pullulane amphiphile et ses dérivés

Le pullulane de masse molaire avoisinant 50 000 g/mol a été greffé chimiquement avec le cholestérol. La réaction se fait en deux étapes [13] :

- La première consiste à préparer un dérivé du cholestérol appelé cholestéryl *N*-(6-isocynatoxy) carbamate en faisant réagir le cholestérol avec le 1,6-hexyldiisocyanate. Le solvant utilisé est le toluène anhydre contenant de la pyridine. La réaction se fait à une température de 80 °C pendant 48 heures, et est suivie de plusieurs étapes de précipitation et de purification du produit.
- La deuxième étape consiste à faire réagir le cholestéryl *N*-(6-isocynatoxy) carbamate avec le pullulane à 80 °C pendant 8 heures. Le solvant utilisé est le diméthylsulfoxyde (DMSO) contenant de la pyridine. La réaction est suivie de plusieurs étapes de précipitation et de purification du produit. Le pullulane amphiphile obtenu est faiblement soluble dans l'eau, nécessitant un chauffage à 50-60 °C pendant 12-24 heures. La caractérisation physico-chimique de la suspension laiteuse obtenue a permis de démontrer qu'il s'auto-associe sous forme de micelles polymères dont le diamètre hydrodynamique varie de 8,4 à 13,7 nm à partir d'une concentration de 1 mg/mL déterminée par spectroscopie de fluorescence. Il a été démontré que la taille de ces micelles polymères diminuait lorsque le degré de substitution augmente.

Par ailleurs, le pullulane greffé par des groupements carboxyméthyles a conduit à la formation d'un dérivé pouvant s'auto-associer en milieu aqueux. Ce dérivé est capable d'augmenter la solubilité de principes actifs hydrophobes tels que la benzophénone et le docétaxel [14].

Des hydrogels ont été obtenus par la réticulation du carboxyméthyle pullulane présentant des propriétés thermosensibles [15-16]. La réticulation a été réalisée avec différents types de Jeffamines® (polyétheramines), des monoamines (M-600 et M-2005) [15] ou des diamines (ED-600, ED-2003) [16]. L'addition de Jeffamines® est également à l'origine des propriétés thermogélifiantes. De plus, des microparticules ont été obtenues à partir du carboxyméthyle pullulane [17] ou de sulfopropyle pullulane [18].

L'amylose amphiphile et ses dérivés

L'amylose a été greffé chimiquement avec de l'acide linoléique en utilisant deux méthodes [19] :

- La première consiste à faire réagir l'amylose avec l'acide linoléique préalablement dissous dans le DMSO à différentes températures : 30, 60 et 90 °C. L'amylose greffé avec l'acide linoléique ainsi formé s'auto-associe sous forme de particules sphériques de 150 nm de taille moyenne.
- Dans la deuxième méthode, l'amylose est mis en réaction avec l'acide linoléique en présence de KOH à différentes températures (30, 60 et 90 °C) avant d'être neutralisé par une solution d'HCl. Le produit formé s'auto-associe sous forme de structures nanoparticulaires allongées dont le diamètre varie de 43 à 160 nm.

Les particules obtenues par la première méthode présentent une meilleure stabilité à la température, à l'oxydation et aux variations de pH.

L'héparine amphiphile et ses dérivés

L'héparine a été greffée chimiquement avec l'acide désoxycholique en présence de l'EDC [20]. Le produit obtenu s'auto-associe spontanément dans l'eau et forme des particules d'un diamètre allant de 120 à 200 nm et possédant un potentiel zêta* négatif de - 56 mV. Cette étude a montré que l'augmentation du degré de substitution de 6,2 à 9,6 % diminuait la valeur de la CAC de 0,02 à 0,003 mg/mL et réduisait considérablement la taille des particules.

Le chitosane amphiphile et ses dérivés

Le chitosane est un hétéropolymère linéaire de *N*-acétyl-D-glucosamine et de D-glucosamine liés en β (1-4). Il est biocompatible et peut être biodégradé par des enzymes : lysozymes, certaines lipases et protéases [21]. Ce polysaccharide est obtenu par la désacétylation d'un polysaccharide naturel, la chitine. Aujourd'hui, la chitine est le deuxième polysaccharide le plus important et le plus abondant dans le monde après la cellulose. Elle est principalement extraite de la carapace de crustacés tels que le homard ou le crabe, mais elle est aussi présente dans les champignons et chez les insectes.

Le degré d'acétylation (DA) est une caractéristique essentielle de la chitine et du chitosane. Il représente la fraction d'unités *N*-acétyl-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités sucrées. Selon la valeur du degré d'acétylation du composé, on parlera soit de la chitine (DA > 50 %), soit du chitosane (DA < 50 %). La présence de groupements hydroxyles (OH) et amines (NH₂) facilement fonctionnalisables permet de modifier les propriétés de la molécule et

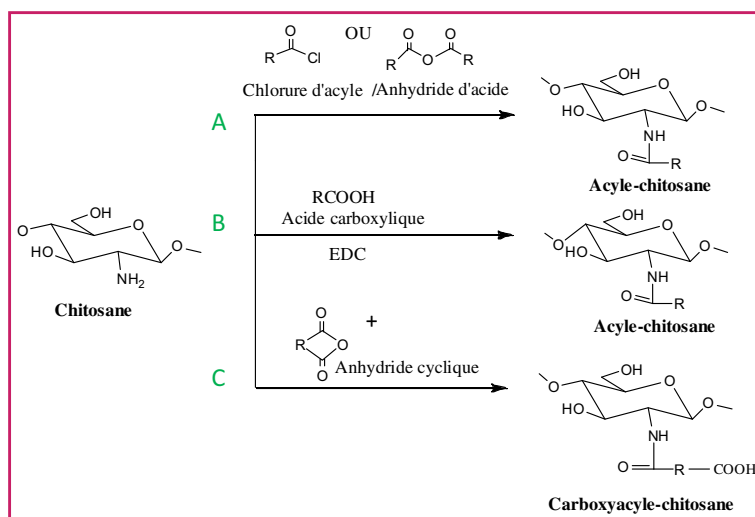


Figure 2 - Différentes voies chimiques pour la *N*-acylation du chitosane faisant appel à (A) des chlorures d'acyle ou des anhydrides d'acides linéaires, (B) des acides carboxyliques, et (C) des anhydrides d'acides cycliques.

donc son comportement en solution. En effet, contrairement à la chitine qui est insoluble en milieu aqueux et dans de nombreux solvants organiques, le chitosane est hydrophile, soluble dans les solutions acides par protonation des fonctions amines présentes sur le polymère. La solubilité du chitosane est d'autant plus élevée que son DA et sa masse molaire sont faibles.

Le chitosane présente la caractéristique d'être mucoadhésif grâce à l'interaction entre les charges positives portées par les fonctions amines et les charges négatives portées par les membranes biologiques [22-23]. La propriété mucoadhésive des formulations à base de chitosane entraîne un meilleur contact avec les muqueuses et surtout un ralentissement de la demi-vie des principes actifs et, en conséquence, une augmentation de la durée de leur exposition aux muqueuses. Pour des hydrogels de viscosités comparables, une formulation contenant un polymère mucoadhésif permet d'obtenir un temps de rémanence supérieur à un simple agent viscosifiant tel que la carboxyméthylcellulose ou le dextrane [24]. Il faut noter qu'en plus de ses propriétés mucoadhésives, le chitosane, connu pour son excellente biocompatibilité, sa faible toxicité et sa biodégradabilité, possède des activités antibactériennes et antiparasitaires.

Grâce à ses propriétés, il est largement utilisé dans des applications biomédicales aussi bien sous forme d'hydrogels que de systèmes vecteurs. Après son administration par voie orale, le chitosane subit une dégradation chimique au niveau de l'estomac. Il peut également être dégradé par les lysozymes et les enzymes bactériennes au niveau du colon. Le DA faible du chitosane réduit sa cinétique de dégradation [25-26]. Cependant, à ce jour, son mécanisme de dégradation après administration intraveineuse n'est pas clairement établi [27]. Certaines études ont tout de même montré que la distribution, la dégradation et les processus d'élimination du chitosane dépendent fortement de sa masse

molaire. Après administration, sa présence dans le foie et dans les reins peut permettre de suggérer que ces organes seraient les sites de dégradation.

Le chitosane peut être modifié chimiquement par le greffage de groupements hydrophobes. Grâce à la présence de groupements hydroxyle et amine, il peut être fonctionnalisé afin d'obtenir des systèmes amphiphiles de structure et d'architecture diverses. Cependant, sa fonction amine étant plus réactive que les deux fonctions hydroxyles (figure 2), tous les travaux qui décrivent la formation du chitosane amphiphile concernent le greffage de groupements hydrophobes sur la fonction amine par des réactions de *N*-acylation.

Tout comme les autres polysaccharides, le greffage de groupements hydrophobes sur le chitosane lui confère de nouvelles propriétés physico-chimiques, notamment sa capacité à s'auto-associer spontanément en formant des structures et des formes variées :

- Les micelles polymères formées par auto-association permettent d'obtenir des nanoparticules par réticulation*. Le tableau II résume les différentes molécules hydrophobes qui peuvent être greffées sur le chitosane, les conditions réactionnelles, ainsi que les principes actifs encapsulés décrits dans la littérature.
- Dans certaines conditions de concentration et de degré de substitution du chitosane, des hydrogels peuvent être formés. C'est le cas par exemple du glycol-chitosane lié

Tableau II - Les différents systèmes vecteurs formés et les principes actifs encapsulés par le chitosane rendu amphiphile selon le procédé de *N*-acylation.

BSA : albumine de sérum bovin ; CAC : concentration micellaire critique ; EDC : chlorhydrate de 1-éthyle-3-(3-diméthylaminopropyle) carbodiimide ; EE : efficacité d'encapsulation ; STPP : tripolyphosphate de sodium.

Molécule hydrophobe utilisée	Système formé et conditions réactionnelles	Principe actif
Acide stéarique [32]	Agent de couplage EDC - Nanoparticules (28-75 nm) après réticulation par le glutaraldéhyde - Micelles (27,4 ± 2,4 nm) CAC = 0,02 mg/mL	- Paclitaxel (EE = 94 %), solubilité dans les micelles : 122,6 µg/mL - Doxorubicine (EE = 50-56 %)
Acide linoléique [33]	Nanoparticules *210 nm après réticulation par le STPP *210,8 nm EDC	- BSA (EE = 19-37 %)
Acide désoxycholique [38]	Agent de couplage EDC - Agrégats (162 nm) CAC = 0,017 mg/mL - Agrégats (159 nm) CAC = 0,026 mg/mL	- ADN (plasmide) - Adriamycine
Acide oléique [5, 36]	- Chlorure d'acyle oléique Nanoparticules (255 nm) - EDC Nanoparticules (60-100 nm) CAC = 0,056-0,028 mg/mL	- Doxorubicine (EE = 52,6 %)
Acide linoléique [34]	- Nanoparticules 210 nm EDC/glutaraldéhyde	- Trypsine
Acide palmitique [39]	- Micelles CAC = (2-37) × 10 ⁻³ mg/mL	- Ibuprofène (EE = 10 %)

chimiquement à l'acide palmitique. En effet, ce produit est obtenu en faisant réagir le *N*-hydroxysuccinimide de l'acide palmitique avec le chitosane, pendant 72 heures à l'abri de la lumière. Les hydrogels obtenus sont bio-adhésifs et peuvent encapsuler jusqu'à 27,5 % de dextrane fluorescéinylé, utilisé comme molécule modèle [28].

- Des microsphères peuvent être obtenues par *N*-acylation du chitosane en présence d'anhydrides d'acide tels que les anhydrides d'acides acétique, propionique ou *n*-butyrique, dans une émulsion eau dans l'huile (E/H). Des dérivés amides du chitosane sont ainsi obtenus dans le but de former des microsphères à libération contrôlée [2].

- Enfin, d'autres structures ont été obtenues telles que des vésicules polymères [3] et des membranes [29] qui ne sont pas traitées dans cet article.

Les micelles polymères formées par auto-association du chitosane amphiphile ainsi que les nanoparticules qui résultent de leur réticulation restent les formes les plus décrites dans la littérature. Ces micelles peuvent être formées en faisant réagir les fonctions amines du chitosane avec des molécules comportant des fonctions chlorures d'acyles, acides ou anhydrides d'acides, linéaires ou cycliques (figure 2).

La *N*-acylation du chitosane a été réalisée dans le mélange pyridine/chloroforme, en présence de chlorure d'acyle décanoïque, hexanoïque ou laurique, en faisant varier les degrés de substitution et les longueurs des chaînes carbonées. Les produits obtenus sont solubles dans les solvants organiques tels que le chloroforme, le benzène, la pyridine et le tétrahydrofurane (THF) [30] (figure 2A).

Cependant, la *N*-acylation du chitosane par un acide (beaucoup moins réactif que le chlorure d'acyle) a nécessité l'utilisation d'agents de couplage tels que les dérivés du carbodiimide [31] (figure 2B). L'EDC réagit avec les fonctions carboxyliques de l'acide gras (stéarique [32], linoléique [34], oléique [35]...) (tableau II), pour conduire à un ester intermédiaire réactif permettant l'acylation de la fonction amine primaire du chitosane. Ainsi, le chitosane a pu être modifié par une réaction entre ses fonctions amines et le groupement carboxylique de l'acide linoléique, en présence d'EDC comme agent de couplage. Le chitosane modifié s'auto-associe sous forme de micelles polymères, qui peuvent être réticulées pour former des nanoparticules utilisées pour l'encapsulation de différents principes actifs. Par exemple, dans l'étude réalisée par Lee *et coll.* [37], des fluides superparamagnétiques* composés de nanocristaux d'oxyde de fer également appelés SPION (« superparamagnetic iron oxide nanocrystals »), des agents de contraste utilisés dans l'imagerie par résonance magnétique (IRM) du foie, ont été incorporés dans des nanoparticules de chitosane greffé avec l'acide linoléique. Il a été démontré que le greffage de l'acide désoxycholique sur le chitosane pouvait être obtenu en présence d'EDC selon le mécanisme décrit dans la figure 3 [31, 38]. Il a été observé que les agrégats formés étaient capables d'encapsuler jusqu'à 49,6 % de doxorubicine (un agent anticancéreux inhibiteur de la topoisomérase II) et que la taille des agrégats augmentait avec la quantité de principe actif encapsulé. Nous rappelons que les acides biliaires tels que l'acide désoxycholique et l'acide β -cholannique, ayant eux-mêmes des propriétés amphiphiles, forment dans l'eau des micelles ou des agrégats, selon la taille des objets obtenus, pour faciliter l'émulsification, la solubilisation et l'absorption du cholestérol, des acides gras et des vitamines lipophiles dans l'organisme.

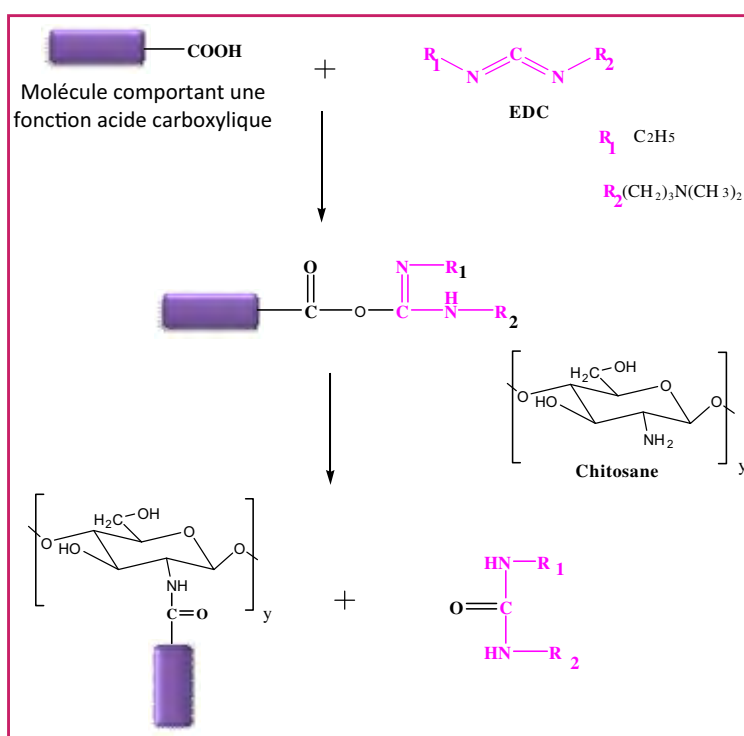


Figure 3 - Mécanisme de couplage de molécule comportant une fonction acide carboxylique au chitosane en présence de chlorhydrate de 1-éthyle-3-(3-diméthylaminopropyle) carbodiimide (EDC).

Enfin, les anhydrides cycliques d'acide (acétique, propionique, *n*-butyrique, hexanoïque, octanoïque, laurique, palmitique, stéarique...) donnent des dérivés de *N*-carboxyacyle chitosane, par ouverture du cycle anhydride [40-42] (figure 2C). En plus des acides gras linéaires, d'autres groupements acyles insaturés peuvent être greffés sur le chitosane, avec des longueurs de chaîne carbonée allant de C_2 à C_{18} , mais aussi des groupements aromatiques (phthaloyle, nitrobenzène, cinnamoyl) [43-44]. Parmi les molécules hydrophobes cycliques, on retrouve le cholestérol qui a été greffé au chitosane ou au carboxyméthyle chitosane. Les produits résultants s'auto-associent pour former des micelles qui, après réticulation, permettent d'obtenir des nanoparticules sphériques et monodisperses utilisées pour encapsuler l'épirubicine comme agent anticancéreux et l'albumine sérique bovine [45-46].

Conclusion

Cet article dresse un ensemble de travaux de recherche sur les polysaccharides amphiphiles et leur intérêt dans l'encapsulation de médicaments. À l'issue de cette étude, il apparaît clairement que les dérivés amphiphiles du chitosane ont fait l'objet de nombreux travaux en comparaison avec les autres polysaccharides. Les dérivés amphiphiles du chitosane sont obtenus par *N*-acylation, en fixant des molécules hydrophobes cycliques (cholestérol, acide désoxycholique...) ou linéaires (acide linoléique, oléique...) sur son squelette hydrophile. Une fois modifié, le chitosane amphiphile présente la capacité de s'auto-organiser au contact de milieux aqueux pour former des micelles polymères, des nano-agrégats... De telles structures peuvent être employées pour l'encapsulation et la libération de molécules actives.

Références

- [1] Vauthier C., Bouchemal K., Methods for the preparation and manufacturing of polymeric nanoparticles, *Pharm. Res.*, **2009**, 26, p. 1025.
- [2] Mi F.-L., Peng C.-K., Huang M.-F., Lo S.-H., Yang C.-C., Preparation and characterization of *N*-acetylchitosan, *N*-propionylchitosan and *N*-butyrylchitosan microspheres for controlled release of 6-mercaptopurine, *Carbohydr. Polym.*, **2005**, 60, p. 219.
- [3] Wang W., McConaghy A.M., Tetley L., Uchegbu I.F., Controls on polymer molecular weight may be used to control the size of palmitoyl glycol chitosan polymeric vesicles, *Langmuir*, **2001**, 17, p. 631.
- [4] Liang G., Jia-Bi Z., Fei X., Bin N., Preparation, characterization and pharmacokinetics of *N*-palmitoyl chitosan anchored docetaxel liposomes, *J. Pharm. Pharmacol.*, **2007**, 59, p. 661.
- [5] Dufes C., Schätzlein A.G., Tetley L., Gray A.I., Watson D.G., Olivier J.-C., Couet W., Uchegbu I.F., Niosomes and polymeric chitosan based vesicles bearing transferrin and glucose ligands for drug targeting, *Pharm. Res.*, **2000**, 17, p. 1250.
- [6] Liu Z., Jiao Y., Wang Y., Zhou C., Zhang Z., Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2008**, 60, p. 1650.
- [7] Daoud-Mahammed S., Ringard-Lefebvre C., Razzouq N., Rosilio V., Gillet B., Couvreur P., Amiel C., Gref R., Spontaneous association of hydrophobized dextran and poly- β -cyclodextrin into nanoassemblies: Formation and interaction with a hydrophobic drug, *J. Colloid. Interf. Sci.*, **2007**, 307, p. 83.
- [8] Othman M., Bouchemal K., Couvreur P., Gref R., Microcalorimetric investigation on the formation of supramolecular nanoassemblies of associative polymers loaded with gadolinium chelate derivatives, *Int. J. Pharm.*, **2009**, 379, p. 218.
- [9] Nichifor M., Lopes A., Carпов A., Melo E., Aggregation in water of dextran hydrophobically modified with bile acids, *Macromolecules*, **1999**, 32, p. 7078.
- [10] Yerushalmi N., Margalit R., Hyaluronic acid-modified bioadhesive liposomes as local drug depots: Effects of cellular and fluid dynamics on liposome retention at target sites, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1998**, 349, p. 21.
- [11] Surace C., Arpicco S., Dufay-Wojcicki A., Marsaud V., Bouclier C., Clay D., Cattel L., Renoir J.-M., Fattal E., Lipoplexes targeting the CD44 hyaluronic acid receptor for efficient transfection of breast cancer cells, *Mol. Pharmaceut.*, **2009**, 6, p. 1062.
- [12] Eliaz R.E., Szoka F.C., Liposome-encapsulated doxorubicin targeted to CD44: A strategy to kill CD44-overexpressing tumor cells, *Cancer Res.*, **2001**, 61, p. 2592.
- [13] Akiyoshi K., Deguchi S., Moriguchi N., Yamaguchi S., Sunamoto J., Self-aggregates of hydrophobized polysaccharides in water: Formation and characteristics of nanoparticles, *Macromolecules*, **1993**, 26, p. 3062.
- [14] Henni-Silhadhi W., Deyme M., Boissonnade M.-M., Appel M., Le Cerf D., Picton L., Rosilio V., Enhancement of the solubility and efficacy of poorly water-soluble drugs by hydrophobically-modified polysaccharide derivatives, *Pharm. Res.*, **2007**, 24, p. 2317.
- [15] Mocanu G., Mihai D., Dulong V., Picton L., Le Cerf D., New anionic amphiphilic thermosensitive pullulan derivatives, *Carbohydr. Polym.*, **2011**, 84, p. 276.
- [16] Mocanu G., Mihai D., Dulong V., Picton L., Le Cerf D., New anionic crosslinked multi-responsive pullulan hydrogels, *Carbohydr. Polym.*, **2012**, 87, p. 1440.
- [17] Mocanu G., Mihai D., Dulong V., Picton L., Le Cerf D., Moscovici M., Anionic polysaccharide hydrogels with thermosensitive properties, *Carbohydr. Polym.*, **2011**, 83, p. 52.
- [18] Mocanu G., Mihai D., Le Cerf D., Picton L., Moscovici M., Cyclodextrin anionic polysaccharide hydrogels: Synthesis, characterization, and interaction with some organic molecules (water, pollutants, drugs, proteins), *J. Appl. Polym. Sci.*, **2009**, 112, p. 1175.
- [19] Lalush I., Bar H., Zakaria I., Eichler S., Shimoni E., Utilization of amylase-lipid complexes as molecular nanocapsules for conjugated linoleic acid, *Biomacromolecules*, **2005**, 6, p. 121.
- [20] Park K., Kim K., Kwon I.C., Kim S.K., Lee S., Lee D.Y., Byun Y., Preparation and characterization of self-assembled nanoparticles of heparin-deoxycholic acid conjugates, *Langmuir*, **2004**, 20, p. 11726.
- [21] Bardot P.-M., Crini G., Guibal E., Chitine et chitosane - Du biopolymère à l'application, *Presses universitaires de Franche-Comté*, **2009**.
- [22] Sajeesh S., Bouchemal K., Sharma C.P., Vauthier C., Surface functionalized polymethacrylate acid based hydrogel microparticles for oral drug delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2010**, 74(2), p. 209.
- [23] Petit B., Bouchemal K., Vauthier C., Djabourov M., Ponchel G., The counterbalanced effect of size and surface properties of chitosan-coated poly(isobutylcyanoacrylate) nanoparticles on mucoadhesion due to pluronic F68 addition, *Pharm. Res.*, **2012**, 29(4), p. 943.
- [24] Davies N.M., Fair S. J., Hadgraft J., Kellaway I.W., Evaluation of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. I. Viscous solutions, *Pharm. Res.*, **1991**, 8, p. 1039.
- [25] Yang Y.M., Hu W., Wang X.D., Gu X.S., The controlling biodegradation of chitosan fibers by *N*-acetylation *in vitro* and *in vivo*, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **2007**, 18, p. 2117.
- [26] Xu J., McCarthy S.P., Gross R.A., Kaplan D.L., Chitosan film acylation and effects on biodegradability, *Macromolecules*, **1996**, 29, p. 3436.
- [27] Kean T., Thanou M., Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **2010**, 62, p. 3.
- [28] Martin L., Wilson C.G., Koosha F., Tetley L., Gray A.I., Senel S., Uchegbu I.F., The release of model macromolecules may be controlled by the hydrophobicity of palmitoyl glycol chitosan hydrogels, *J. Control. Release*, **2002**, 80, p. 87.
- [29] Seo T., Ohtake H., Unishi T., Iijima T., Permeation of solutes through chemically modified chitosan membranes, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1995**, 58, p. 633.
- [30] Zong Z., Kimura Y., Takahashi M., Yamane H., Characterization of chemical and solid state structures of acylated chitosans, *Polymer*, **2000**, 41, p. 899.
- [31] Lee K.Y., Kwon I.C., Kim Y.H., Jo W.H., Jeong S.Y., Preparation of chitosan self-aggregates as a gene delivery system, *J. Control. Release*, **1998**, 51, p. 213.
- [32] Hu F.-Q., Ren G.-F., Yuan H., Du Y.-Z., Zeng S., Shell cross-linked stearic acid grafted chitosan oligosaccharide self-aggregated micelles for controlled release of paclitaxel, *Colloid. Surface B*, **2006**, 50, p. 97.
- [33] Liu C.-G., Desai Kashappa G., Chen X.-G., Park H.-J., Preparation and characterization of self-assembled nanoparticles based on linolenic-acid modified chitosan, *Journal of Ocean University of China*, **2005**, 4(3), p. 234.
- [34] Liu C.-G., Chen X.-G., Park H.-J., Self-assembled nanoparticles based on linoleic-acid modified chitosan: Stability and adsorption of trypsin, *Carbohydr. Polym.*, **2005**, 62, p. 293.
- [35] Zhang J., Chen X.G., Li Y.Y., Liu C.S., Self-assembled nanoparticles based on hydrophobically modified chitosan as carriers for doxorubicin, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, **2007**, 3(4), p. 258.
- [36] Huang L., Liu X.C.C., Xing K., Zhang J., Sun G., Li X., Chen X., Preparation, characterization, and antibacterial activity of oleic acid-grafted chitosan oligosaccharide nanoparticles, *Frontiers of Biology in China*, **2009**, 4, p. 321.
- [37] Lee C.-M., Jeong H.-J., Kim S.-L., Kim E.-M., Kim D.W., Lim S.T., Jang K.Y., Jeong Y.Y., Nah J.-W., Sohn M.-H., SPION-loaded chitosan-linoleic acid nanoparticles to target hepatocytes, *Int. J. Pharm.*, **2009**, 371, p. 163.
- [38] Lee K.Y., Jo W.H., Kwon I.C., Kim Y.-H., Jeong S.Y., Structural determination and inferior polarity of self-aggregates prepared from deoxycholic acid-modified chitosan in water, *Macromolecules*, **1998**, 31, p. 378.
- [39] Jiang G.-B., Quan D., Liao K., Wang H., Novel polymer micelles prepared from chitosan grafted hydrophobic palmitoyl groups for drug delivery, *Molecular Pharmaceutics*, **2006**, 3(2), p. 152.
- [40] Lee K.Y., Ha W.S., Park W.H., Blood compatibility and biodegradability of partially *N*-acylated chitosan derivatives, *Biomaterials*, **1995**, 16, p. 1211.
- [41] Lee M.Y., Hong K.-J., Kajiuchi T., Yang J.-W., Synthesis of chitosan-based polymeric surfactants and their adsorption properties for heavy metals and fatty acids, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2005**, 36, p. 152.
- [42] Mourya V.K., Inamdar N.N., Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore, *React. Funct. Polym.*, **2008**, 68, p. 1013.
- [43] Hirano S., Ohe Y., Ono H., Selective *N*-acylation of chitosan, *Carbohydr. Res.*, **1976**, 47, p. 315.
- [44] Hirano S., Moriyasu T., *N*-(carboxyacyl)chitosans, *Carbohydr. Res.*, **1981**, 92, p. 323.
- [45] Wang Y., Jiang Q., Liu L.R., Zhang Q., The interaction between bovine serum albumin and the self-aggregated nanoparticles of cholesterol-modified *O*-carboxymethyl chitosan, *Polymer*, **2007**, 48, p. 4135.
- [46] Wang Y.-S., Liu L.-R., Jiang Q., Zhang Q.-Q., Self-aggregated nanoparticles of cholesterol-modified chitosan conjugate as a novel carrier of epirubicin, *Eur. Polym. J.*, **2007**, 43, p. 43.



L.N. Hassani



K. Bouchemal



F. Hendra

Leila Narimen Hassani est docteur en pharmacie et **Kawthar Bouchemal** (auteur correspondant), maître de conférences, UMR CNRS 8612 « Institut Galien Paris Sud », à la Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry*.

Frédéric Hendra est maître de conférences, UMR CNRS 8076 « Biomolécules : conception, isolement, synthèse », Groupe Chimiothérapie antiparasitaire, à la Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry**.

* UMR CNRS 8612 « Institut Galien Paris Sud », Faculté de pharmacie, 5 rue Jean-Baptiste Clément, F-92296 Châtenay-Malabry Cedex.
Courriels : leila.hassani@gmail.com ; kawthar.bouchemal@u-psud.fr

** UMR CNRS 8076 « Biomolécules : conception, isolement, synthèse », Groupe Chimiothérapie antiparasitaire, 5 rue Jean-Baptiste Clément, F-92296 Châtenay-Malabry Cedex.
Courriel : frederic.hendra@u-psud.fr

Le cercle des conformations

Un moyen efficace pour comprendre la chiralité des molécules mobiles et leur activité optique

Valdo Pellegrin

Résumé Il est quelquefois difficile pour un étudiant de comprendre pourquoi une molécule mobile existant dans une infinité de conformations chirales est en réalité optiquement inactive. Grâce au cercle des conformations, dont la définition est donnée, il est montré qu'à chaque conformation chirale d'une molécule mobile optiquement inactive correspond une conformation chirale énantiomère, mettant ainsi en évidence l'existence d'un racémique dynamique. Cela se traduit sur le cercle des conformations par la présence d'au moins un axe de symétrie qui sépare deux infinités de points du cercle représentant des conformations énantiomères deux à deux. L'intersection de cet axe de symétrie avec le cercle des conformations correspond à des conformations achirales. On en déduit la règle de parité suivante : une molécule mobile optiquement inactive possède toujours un nombre pair de conformations achirales à côté d'une infinité de conformations chirales énantiomères deux à deux.

Mots-clés Chimie organique, stéréochimie, chiralité, activité optique, molécule mobile.

Abstract **The conformational circle: an efficient mean to understand the chirality of mobile molecules and their optical activity**

It is sometime difficult for a student to understand why a mobile molecule which exists in an infinite number of chiral conformations is actually optically inactive. A definition of "the conformational circle" is proposed with which we demonstrate that for each chiral conformation of an optically inactive mobile molecule corresponds another chiral enantiomeric conformation, the consequence of which is the existence of a dynamic racemic mixture. This implies on the conformation circle the presence of at least one symmetry axis which separates two infinities of circle points representing enantiomeric conformations two by two. The intersections of a symmetry axis with the conformational circle correspond to two achiral conformations. We draw from this the parity rule: a mobile molecule optically inactive always possesses an even number of achiral conformations as well as an infinity of chiral enantiomeric conformations two by two.

Keywords Organic chemistry, stereochemistry, chirality, optical activity, mobile molecule.

Lors de l'étude des groupes de symétrie, de nombreux ouvrages prennent l'exemple de la molécule d'éthane dans une de ses conformations obliques en précisant qu'elle appartient au groupe de symétrie $D_3^{(1)}$ et donc qu'elle est chirale. Mais lorsque l'isométrie optique est abordée, il n'est plus question de l'éthane, tellement il est évident que cette molécule n'a pas de pouvoir rotatoire. Lorsque dans le même chapitre est traité le cas du fameux acide mésotartrique, optiquement inactif malgré ses deux carbones asymétriquement substitués, il est généralement précisé qu'une molécule mobile⁽²⁾ est optiquement inactive si et seulement si une de ses conformations est achirale, ce qui n'est pas faux, mais incomplet. Et parfois, on rencontre un étudiant surpris de découvrir qu'il y a deux conformations achirales de l'acide mésotartrique. Ceci nous a amené à définir le cercle des conformations qui nous permet d'étudier de façon complète l'activité optique des molécules mobiles. Celles-ci présentent une rotation plus ou moins libre autour d'une simple liaison de référence du type $C_{sp3}-C_{sp3}$, $C_{sp2}-C_{sp2}$ ou $C_{sp3}-C_{sp2}$, ou encore dans les molécules sandwich (métallocènes) qui présentent une libre rotation des deux cycles l'un par rapport à l'autre.

Définition du cercle des conformations

Un point M du cercle des conformations (dont la longueur du rayon est arbitraire) caractérisé par l'angle $\theta = \text{POM}$ (figure 1) représente la conformation d'une molécule mobile dont l'angle dièdre par rapport à une liaison simple C-C de référence est égal à θ° (figure 2). Rappelons que l'angle dièdre est généralement défini à partir des substituants prioritaires selon la règle séquentielle de Cahn-Ingold-Prelog [1] sur chaque carbone. Ici, l'ordre supposé des priorités est $X > Y > a$. Le signe de l'angle dièdre est défini selon Klyne et Prelog [2]. Il y a donc correspondance biunivoque entre le point M du cercle des conformations (figure 1) et la conformation de la molécule Xa_2C-Ca_2Y d'angle θ (représentée en projection de Newman sur la figure 2).

Quand le point M décrit tout le cercle des conformations à partir de l'origine P ($\theta = 0^\circ$), il représente successivement toutes les conformations de la molécule mobile pour une

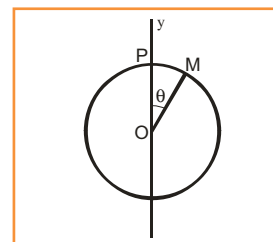


Figure 1 - Le cercle des conformations.

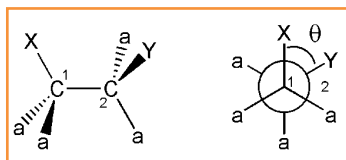


Figure 2 - Conformation d'angle θ représentée par le point M sur le cercle des conformations.

rotation complète de 360° autour de la liaison simple C-C de référence. Dans la pratique, on laisse fixe l'un des carbonnes de la liaison de référence, ici le carbone C_1 , et on fait tourner l'autre, ici le carbone C_2 . Le cercle des conformations est surtout utile pour les molécules mobiles optiquement inactives. Dans ce cas, on appellera Δ tout axe de symétrie du cercle des conformations. Ainsi, deux points du cercle des conformations qui sont symétriques par rapport à un axe de symétrie Δ , représentent deux conformations énantiomères de la molécule étudiée, comme nous le verrons plus loin.

Rotation autour d'une liaison de référence $C_{sp^3}-C_{sp^3}$

Cas de la molécule d'éthane

Considérons la molécule d'éthane dans laquelle nous repérons un atome d'hydrogène H_a sur le carbone C_1 et un atome d'hydrogène H_b lié au carbone C_2 .

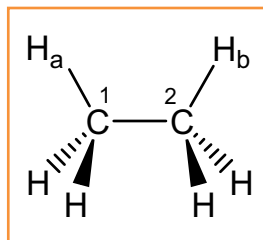


Figure 3 - Conformation I ($\theta = 0^\circ$) de l'éthane en représentation de CRAM.

Soit θ l'angle dièdre $H_a-C_1-C_2-H_b$ (figure 3) ; en laissant fixe le carbone C_1 , faisons tourner le carbone C_2 de 360° autour de l'axe de la liaison C_1-C_2 . Nous passons successivement par six conformations pour $\theta = 0^\circ, 60^\circ, 120^\circ, 180^\circ, -120^\circ$ et -60° qui possèdent toutes un plan de symétrie et sont par conséquent achirales. Les trois conformations éclipsées appartiennent au groupe de symétrie D_{3h} , et les trois conformations décalées, qui sont des conformères⁽³⁾

appartiennent au groupe de symétrie D_{3d} (figure 4). Dans la réalité, les conformations I, III et V sont indiscernables, de même pour les conformations II, IV et VI.

La barrière de rotation pour passer d'une conformation décalée à une autre est faible, de l'ordre de 12 kJ.mol^{-1} [3-4].

L'arc α du cercle des conformations pour θ strictement compris entre 0 et 60° ($0^\circ < \theta < 60^\circ$) représente une infinité de conformations obliques dissymétriques qui sont chirales car appartenant au groupe de symétrie D_3 (figure 5).

Le cercle des conformations fait apparaître six infinités de conformations chirales correspondant aux trois arcs de

cercle α et aux trois arcs de cercle α' pour des valeurs de θ ci-dessous :

$$\alpha \begin{cases} 0^\circ < \theta < 60^\circ \\ 120^\circ < \theta < 180^\circ \\ -120^\circ < \theta < -60^\circ \end{cases}$$

$$\alpha' \begin{cases} 60^\circ < \theta < 120^\circ \\ -180^\circ < \theta < -120^\circ \\ -60^\circ < \theta < 0^\circ \end{cases}$$

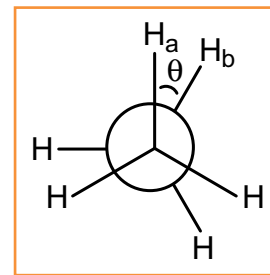


Figure 5 - Une conformation oblique de l'éthane pour $0^\circ < \theta < 60^\circ$.

La conformation oblique représentée sur le cercle des conformations par le point F_1 (figure 4) possède trois conformations énantiomères représentées par les points F_2, F_3 et F_4 , symétriques respectivement par rapport aux diamètres colinéaires aux axes de symétrie Δ_2, Δ_3 et Δ_1 du cercle des conformations.

Ainsi les trois infinités de conformations obliques, représentées par les arcs de cercle α , ont pour énantiomères point par point les trois infinités de conformations obliques représentées par les arcs de cercle α' . Une conformation chirale et son énantiomère ayant la même énergie, toutes ces infinités sont également peuplées si bien que, par compensation, l'effet sur la lumière polarisée est nul. On a un racémique dynamique et statistiquement, le pouvoir rotatoire d'un échantillon de la molécule d'éthane est nul.

Le passage d'une infinité de conformations obliques α à une infinité de conformations énantiomères α' voisine sur le cercle des conformations se fait obligatoirement par le passage à travers une conformation achirale. De ce fait, les conformations achirales sont toujours en nombre pair.

En conclusion, le cercle des conformations de la molécule d'éthane possède trois axes de symétrie Δ avec six points représentant des conformations achirales.

• Autres exemples de molécules à trois axes de symétrie Δ sur le cercle des conformations (X et Y sont des substituants non chiraux) : CH_3-CH_2X , CH_3-CHX_2 , CH_3-CX_3 , CX_3-CH_2X , CX_3-CHX_2 , CH_3-CX_2Y ...

Ces exemples montrent qu'une molécule de ce type aura trois axes de symétrie Δ sur le cercle des conformations comme l'éthane, si l'un des carbone porte trois substituants identiques tandis que l'autre carbone porte deux substituants identiques entre eux, éventuellement différents de ceux portés par le premier carbone.

Cas de la molécule de 1,2-dichloroéthane

Considérons le cercle des conformations pour la molécule de 1,2-dichloroéthane et représentons les conformations les plus remarquables de cette molécule (figure 6).

Seules les conformations I et IV ont un plan de symétrie et sont par conséquent achirales. Elles appartiennent respectivement aux groupes de symétrie C_{2v} et C_{2h} . Par contre, toutes les autres conformations appartiennent au groupe de symétrie C_2 , en particulier les conformations II, III, V et VI. Elles sont dissymétriques et chirales. De plus, les couples (II, VI) et (III, V) sont des couples d'énantiomères. Le cercle des conformations fait apparaître deux infinités de conformations chirales de symétrie C_2 pour $0^\circ < \theta < 180^\circ$ et $-180^\circ < \theta < 0^\circ$, qui sont énantiomères l'une de l'autre point par point. Le passage d'une infinité d'énantiomères à l'autre infinité d'énantiomères se fait en passant par une conformation achirale. Les conformations achirales sont en nombre pair. Le diamètre du cercle des conformations porté par l'axe Δ_1 est un axe de symétrie du cercle des conformations. Le

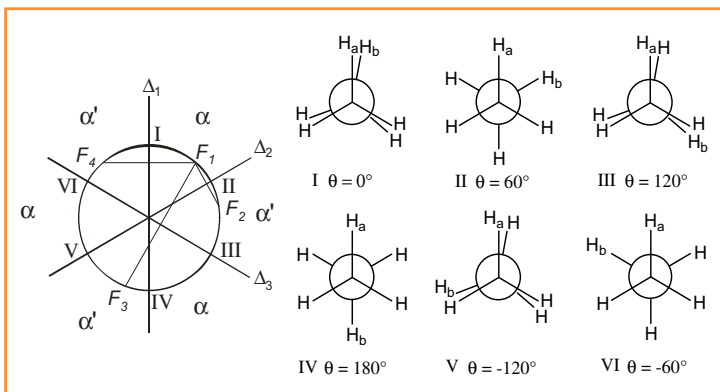


Figure 4 - Le cercle des conformations pour la molécule d'éthane et les six conformations achirales en représentation de Newman.

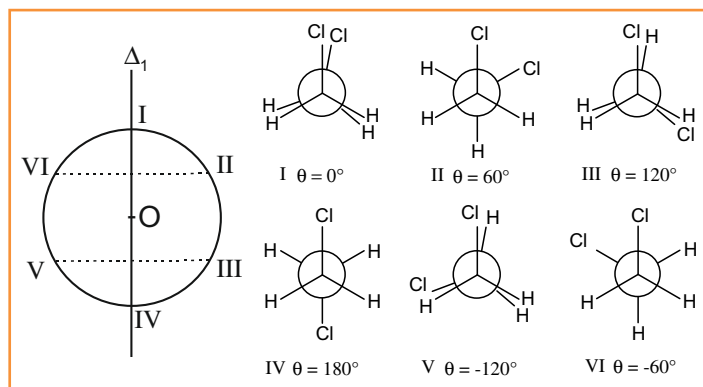


Figure 6 - Le cercle des conformations pour la molécule de 1,2-dichloroéthane et six conformations remarquables (un seul axe de symétrie Δ_1).

1,2-dichloroéthane est donc une molécule dont le cercle des conformations a un seul axe de symétrie Δ_1 et la molécule a deux conformations achirales.

La différence d'enthalpie entre la conformation IV ($\theta = 180^\circ$, anti) et la conformation II ($\theta = 60^\circ$, gauche) en phase gazeuse est de l'ordre 3,8 à 5,4 kJ.mol⁻¹ [5].

• Autres exemples de molécules à un axe de symétrie Δ (X et Y sont des substituants non chiraux) : $X_2CH-CHX_2$, X_2CH-CH_2X , XCH_2-CH_2Y , YX_2C-CX_2H , XY_2C-CY_2H ...

Ces exemples montrent qu'une molécule de ce type aura un seul axe de symétrie Δ sur le cercle des conformations comme le 1,2-dichloroéthane, si chaque atome de carbone porte deux substituants identiques entre eux, mais pouvant être différents d'un carbone à l'autre.

Cas de l'acide tartrique

Acide mésotartrique

Le cercle des conformations appliqué à l'acide mésotartrique montre qu'il a deux conformations achirales (figure 7). La conformation I ($\theta = 0^\circ$) possède un plan de symétrie (groupe C_s), tandis que la conformation IV ($\theta = 180^\circ$) est achirale à cause de son centre de symétrie (groupe C_i).

Il y a deux infinités de conformations chirales (groupe C_1), énantiomères point par point. On passe d'une infinité à l'autre à travers les conformations achirales I et IV. Ces conformations achirales sont en nombre pair.

Le point F_1 sur le cercle des conformations correspond à la conformation d'angle θ (figure 7). Son énantiomère se situe en F'_1 sur le cercle, à l'angle $(-\theta)$. Le diamètre du cercle porté par l'axe Δ_1 est encore axe de symétrie, à l'exception du point du cercle correspondant à la conformation IV qui n'admet pas de plan de symétrie mais un centre de symétrie, qui est équivalent à un axe impropre S_2 .

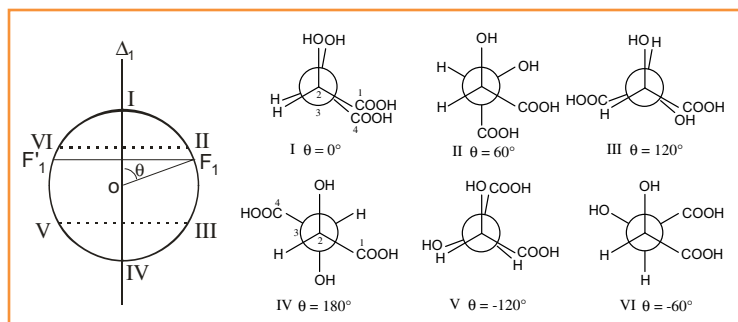


Figure 7 - Le cercle des conformations pour l'acide mésotartrique et six conformations remarquables en représentation de Newman.

Acide tartrique optiquement actif

Appelons A l'énantiomère dextrogyre (+) de configuration (2R,3R) de l'acide tartrique, et A' l'énantiomère lévogyre (-) de configuration (2S,3S). Chaque énantiomère, dont toutes les conformations sont chirales, décrit entièrement le cercle des conformations qui lui est propre. On a donc deux cercles des conformations distincts, celui de l'énantiomère A et celui de l'énantiomère A'. Un axe de symétrie M est alors situé entre les deux cercles à égale distance de chacun d'eux. À tout point F_1 du cercle des conformations de A, correspondant une conformation d'angle θ de A, correspond un point F'_1 du cercle des conformations de A', symétrique par rapport à M et représentant la conformation énantiomère d'angle $-\theta$ de A' (figure 8).

• Exemples de molécules chirales (X, Y, R, R' sont des substituants non chiraux) : $XYHC^+-C^+HXY$ (les diastéréoisomères de configuration RR et SS), $XYHC^+-C^+HRR'$...

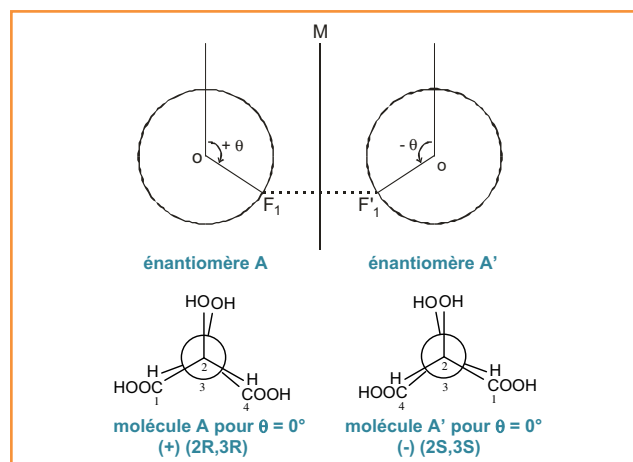


Figure 8 - Les deux cercles des conformations pour le couple des énantiomères A et A' de l'acide tartrique optiquement actif.

Rotation autour d'une liaison de référence $C_{sp^2}-C_{sp^2}$

Cas de la molécule de biphenyle

Considérons la molécule de biphenyle, dans laquelle nous repérons un atome d'hydrogène H_a lié au carbone C_3 et un atome d'hydrogène H_b lié au carbone $C_{3'}$ (figure 9).

Soit θ l'angle dièdre formé par les deux cycles benzéniques. En laissant fixe le cycle le plus près de l'observateur représenté par un trait plein, faisons tourner de 360° le cycle le plus éloigné de l'observateur représenté par un trait en pointillé.

Nous passons successivement par quatre conformations pour $\theta = 0^\circ, 90^\circ, 180^\circ$ et -90° qui sont toutes achirales. Les conformations I et III appartiennent au groupe de symétrie D_{2h} et les conformations II et IV au groupe D_{2d} (figure 10). Dans la réalité, les conformations I et III sont indiscernables, de même que les conformations II et IV.

Les deux barrières de rotation du biphenyle pour $\theta = 0^\circ, 180^\circ$, et $\pm 90^\circ$ sont du même ordre de grandeur, 6 à 8 kJ.mol⁻¹. C'est la raison pour laquelle la conformation la plus stable

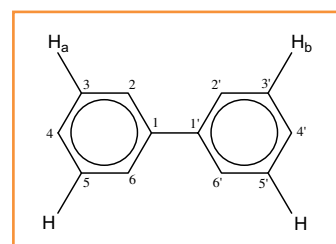


Figure 9 - La conformation I ($\theta = 0^\circ$) du biphenyle.

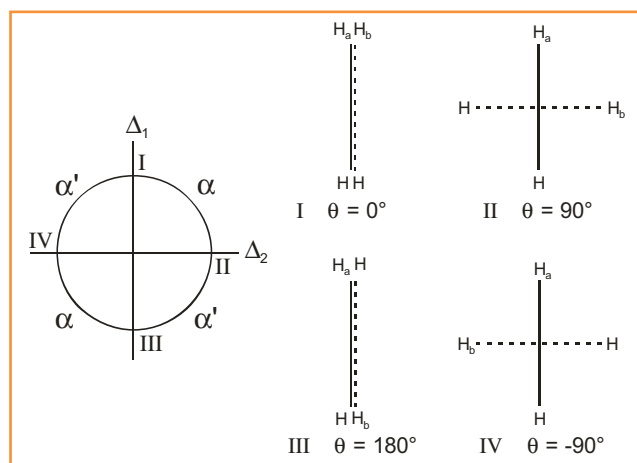


Figure 10 - Le cercle des conformations pour la molécule de biphenyle et ses quatre conformations achirales.

du biphenyle correspond à un angle dièdre mesuré de 44° en phase gazeuse [6]. En solution, θ vaut environ 20° , tandis que le biphenyle est plan à l'état solide [7].

L'arc de cercle α du cercle des conformations pour θ compris strictement entre 0 et 90° ($0^\circ < \theta < 90^\circ$) représente une infinité de conformations obliques appartenant au groupe de symétrie D_2 . Elles sont donc chirales, dissymétriques mais non asymétriques (figure 11). Le cercle des conformations fait apparaître quatre infinités de conformations chirales correspondant aux deux arcs de cercle α et aux deux arcs de cercle α' pour les valeurs de θ ci-dessous :

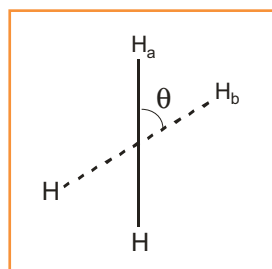


Figure 11 - Une conformation oblique du biphenyle pour $0^\circ < \theta < 90^\circ$.

$$\alpha \begin{cases} 0^\circ < \theta < 90^\circ \\ 180^\circ < \theta < -90^\circ \end{cases}$$

$$\alpha' \begin{cases} -90^\circ < \theta < 0^\circ \\ 90^\circ < \theta < 180^\circ \end{cases}$$

Ainsi les deux infinités de conformations obliques représentées par les arcs de cercle α ont pour énantiomères point par point les deux infinités de conformations obliques représentées par les arcs de cercle α' .

Toutes ces infinités de conformations sont également peuplées, si bien que par compensation, l'effet sur la lumière polarisée est nul. On a un racémique dynamique et statistiquement, le pouvoir rotatoire d'un échantillon de biphenyle est nul.

La molécule de biphenyle possède donc deux axes de symétrie Δ sur le cercle des conformations avec quatre conformations achirales.

- Autres exemples de molécules présentant deux axes de symétrie Δ sur le cercle des conformations : le benzaldéhyde, les biphenyles substitués en para, les biphenyles mono- ou disubstitués en méta par des substituants identiques. Par contre, pour des biphenyles substitués en ortho par des substituants volumineux, la libre rotation est empêchée, ce qui conduit à la chiralité conformationnelle ou atropoisomérisation. L'exemple le plus connu et le plus ancien est celui de l'acide 6,6'-dinitrodiphényl-2,2'-dicarboxylique, pour lequel l'angle dièdre θ est voisin de 90° (groupe C_2). Les deux énantiomères pour $\theta = +90^\circ$ et $\theta = -90^\circ$ ont été séparés par Christie et Kenner en 1922 [8]. Ils sont stables à la température ambiante (figure 12).

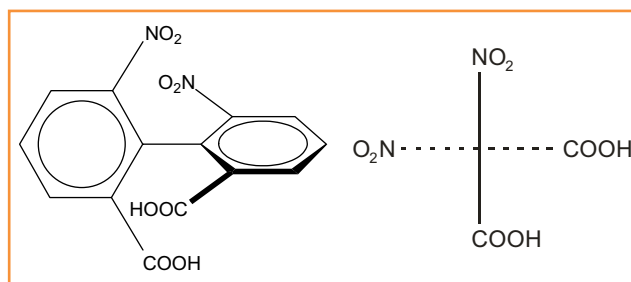


Figure 12 - L'énantiomère R(+) de l'acide 6,6'-dinitrodiphényl-2,2'-dicarboxylique.

Cas de la molécule de buta-1,3-diène

La molécule de buta-1,3-diène peut exister sous deux conformations planes (figure 13) : la conformation I, *s-cis* ($\theta = 0^\circ$, groupe C_{2v}), et la conformation III, *s-trans* ($\theta = 180^\circ$, groupe C_{2h}).

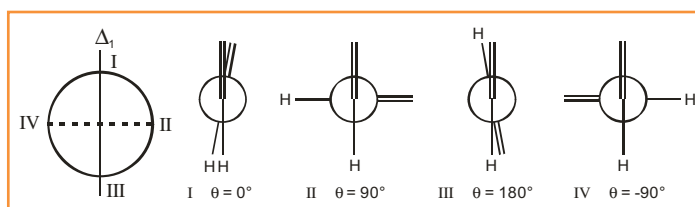


Figure 13 - Le cercle des conformations pour la molécule de buta-1,3-diène.

Il existe deux infinités de conformations énantiomères appartenant au groupe de symétrie C_2 pour $0^\circ < \theta < 180^\circ$ et pour $-180^\circ < \theta < 0^\circ$. Ainsi la conformation II ($\theta = 90^\circ$) est l'énantiomère de IV ($\theta = -90^\circ$). Un échantillon de buta-1,3-diène a donc un pouvoir rotatoire nul. Le conformère *s-cis* est moins stable que le conformère *s-trans* de $10,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$, et la barrière de rotation à partir de *s-trans* s'élève à 30 kJ.mol^{-1} [9]. Le cercle des conformations pour la molécule de buta-1,3-diène fait apparaître deux conformations achirales et un seul axe de symétrie Δ_1 . C'est aussi le cas pour les molécules d'acroléine ($\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CHO}$) et de glyoxal ($\text{OHC}-\text{CHO}$).

Rotation autour d'une liaison de référence $C_{sp^3}-C_{sp^2}$: cas de la molécule de toluène

On appelle θ l'angle dièdre formé par le plan du cycle benzénique contenant H_a , la liaison de référence, et la liaison $\text{C}-\text{H}_b$ du méthyle (figure 14). En laissant fixe le cycle benzénique et en faisant tourner de 360° le méthyle porteur de l'hydrogène H_b , la molécule de toluène passe par douze conformations remarquables.

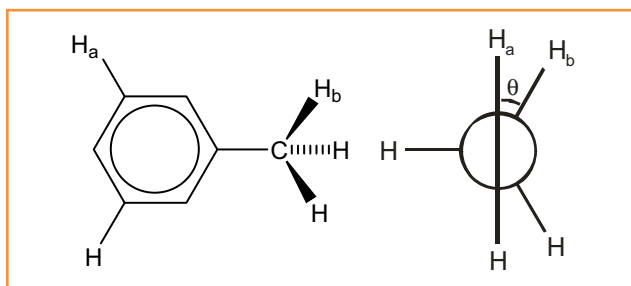


Figure 14 - Conformation du toluène pour un angle θ° .

Six conformations éclipsées ont une liaison C-H du méthyle dans le plan du cycle benzénique : I pour $\theta = 0^\circ$, III pour $\theta = 60^\circ$, V pour $\theta = 120^\circ$, VII pour $\theta = 180^\circ$, IX pour $\theta = -120^\circ$ et XI pour $\theta = -60^\circ$. Ces six conformations ont un plan de symétrie et sont achirales (groupe C_s). Dans la réalité, elles sont indiscernables. Il y a également six conformations décalées pour lesquelles une liaison C-H du méthyle est dans un plan médian perpendiculaire au cycle benzénique : II pour $\theta = 30^\circ$, IV pour $\theta = 90^\circ$, VI pour $\theta = 150^\circ$, VIII pour $\theta = -150^\circ$, X pour $\theta = -90^\circ$ et XII pour $\theta = -30^\circ$. Ces six conformations sont aussi achirales (groupe C_s). Dans la réalité, elles sont indiscernables. On peut représenter ces douze conformations achirales de la molécule de toluène sur le cercle des conformations (figure 15).

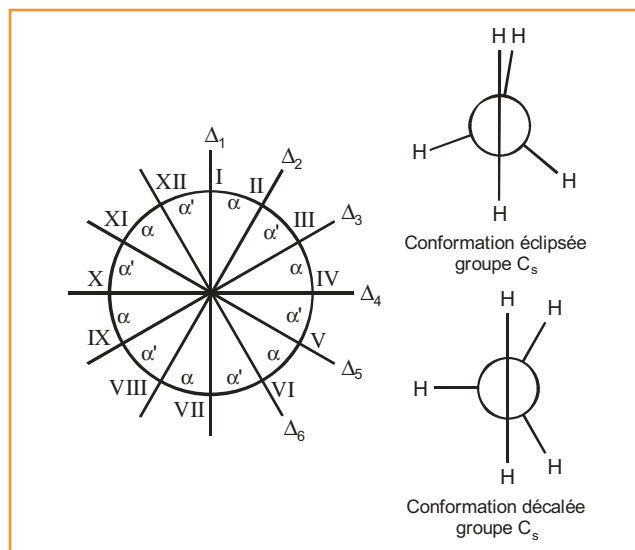


Figure 15 - Le cercle des conformations pour la molécule de toluène.

L'arc de cercle α correspondant à $0^\circ < \theta < 30^\circ$ représente une infinité de conformations chirales asymétriques appartenant au groupe C_1 . Pour des valeurs de θ différentes de celles des douze conformations achirales, le cercle des conformations fait apparaître six infinités de conformations chirales correspondant aux six arcs α et leurs énantiomères points par points correspondant aux six arcs de cercle α' symétriques par rapport à chacun des six axes Δ (Δ_1 à Δ_6). On a donc un racémique dynamique et statistiquement, le pouvoir rotatoire d'un échantillon de toluène est nul. La rotation du méthyle du toluène est pratiquement libre, la barrière n'étant que de $59 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$ [10].

Rotation dans les molécules de métallocènes

Le plus connu des métallocènes est le ferrocène (figure 16). Dans cette molécule, les deux cycles pentagonaux sont dans des plans parallèles et tournent librement l'un par rapport à l'autre autour de l'axe de symétrie C_5 de la molécule [11].

Si on laisse fixe le cycle supérieur porteur de l'hydrogène H_a (figure 16) et que l'on fait tourner de 360° le cycle inférieur porteur de l'hydrogène H_b , on passe par cinq conformations éclipsées achirales de symétrie D_{5h} : I pour $\theta = 0^\circ$, III pour $\theta = 72^\circ$, V pour $\theta = 144^\circ$, VII pour $\theta = -144^\circ$ et IX pour $\theta = -72^\circ$, et par cinq conformations décalées achirales de symétrie D_{5d} : II pour $\theta = 36^\circ$, IV pour $\theta = 108^\circ$, VI pour $\theta = 180^\circ$,

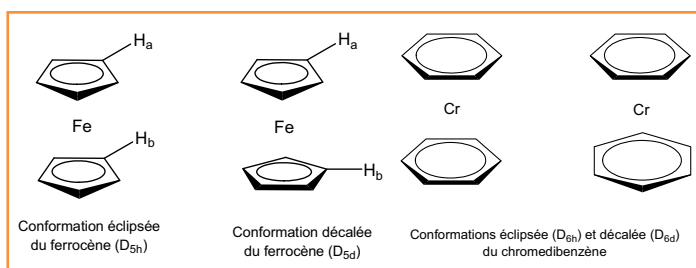


Figure 16 - Conformations de métallocènes.

VIII pour $\theta = -108^\circ$ et X pour $\theta = -36^\circ$. Sur le cercle des conformations du ferrocène (figure 17), cela se traduit par l'existence de cinq axes de symétrie Δ (Δ_1 à Δ_5). Il en découle cinq infinités de conformations chirales de symétrie D_5 (arcs de cercles α) et cinq infinités de conformations chirales énantiomères (arcs de cercles α') constituant un racémique dynamique, d'où l'inactivité optique d'un échantillon de ferrocène.

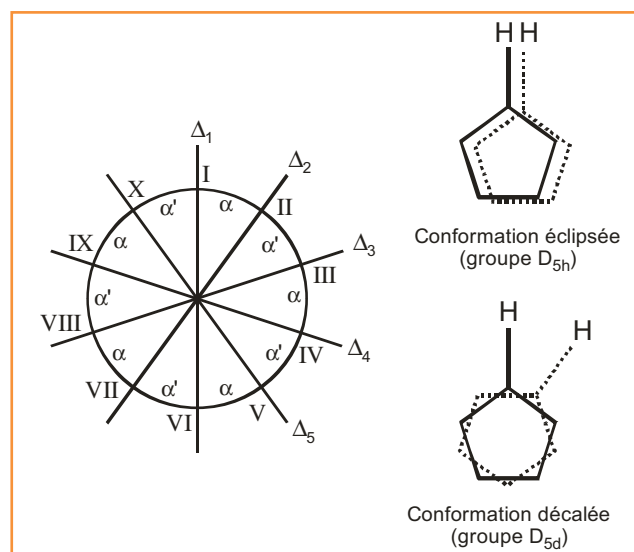


Figure 17 - Le cercle des conformations pour la molécule de ferrocène.

À l'état solide, le ferrocène se présente sous la forme d'un antiprisme pentagonal de symétrie D_{5d} . À noter que si un cycle, dans le ferrocène, porte deux substituants différents, la chiralité apparaît quelle que soit la conformation [12].

De la même manière, pour le chromidibenzène (figure 16), il existe six conformations éclipsées de symétrie D_{6h} et six conformations décalées de symétrie D_{6d} , avec six axes de symétrie Δ (Δ_1 à Δ_6) sur le cercle des conformations. Ici, le racémique dynamique sera constitué de conformations énantiomères appartenant au groupe de symétrie D_6 .

Cas des molécules mobiles à rotation limitée

Les molécules précédemment étudiées ont des conformations présentant une rotation plus ou moins libre. Envisageons maintenant des molécules dans lesquelles la rotation est restreinte ou limitée.

Cas de la molécule de cyclohexane

Le cas de la molécule de cyclohexane est assez complexe, compte tenu de plusieurs conformations intermédiaires qui interviennent dans l'inversion du cycle. Le

cyclohexane en conformation chaise appartient au groupe de symétrie D_{3d} , la conformation bateau au groupe de symétrie C_{2v} , tandis que les conformations croisée et demi-chaise, qui appartiennent au groupe D_2 , sont chirales. Certains auteurs suggèrent également l'existence d'une conformation enveloppe dans laquelle cinq atomes de carbone du cyclohexane sont dans le même plan, le sixième étant hors de ce plan. Cette conformation enveloppe est achirale (groupe de symétrie C_s). Le profil d'énergie pour l'inversion du cyclohexane est tracé sur la *figure 18* [13], qui montre qu'au cours de l'inversion du cycle, les deux conformations demi-chaise énantiomères forment statistiquement un racémique dynamique. Il en est de même pour les deux conformations croisées énantiomères. Un échantillon de cyclohexane a donc un pouvoir rotatoire nul. Notons qu'à température ambiante, la conformation chaise du cyclohexane est prépondérante à 99,9 %.

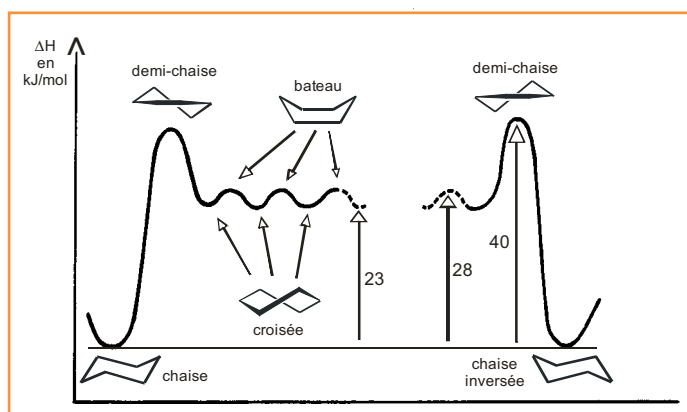


Figure 18 - Profil d'énergie pour l'inversion du cyclohexane.

La *figure 19* représente quatre conformations remarquables du cyclohexane en précisant le signe des angles dièdres selon la notation de Bucourt [14-15], en prenant la valeur théorique de $|60^\circ|$. Dans la réalité, les conformations chaise I et I' sont indiscernables, de même que les conformations bateau II et II'.

Si toutes les liaisons carbone-carbone sont équivalentes dans le cyclohexane en conformation chaise, il n'en est pas de même dès que l'on passe à la conformation bateau. La représentation sur le cercle des conformations va donc dépendre du choix de la liaison de référence. Par exemple, si l'on prend comme liaison de référence la liaison C_1-C_2 , l'angle θ à considérer est l'angle dièdre $C_6-C_1-C_2-C_3$. En prenant les valeurs et signes de cet angle dièdre de la *figure 19*, on peut positionner chacune des quatre conformations sur le cercle des conformations (*figure 19*). On obtient le même positionnement en prenant comme liaison de référence la liaison C_4-C_5 . Si on prend comme liaison de référence la liaison C_1-C_6 , θ varie de -60° pour les conformations chaise I et bateau II, à $+60^\circ$ pour le bateau II' et la chaise I'. On obtient des résultats semblables en prenant comme liaison de référence C_3-C_4 , C_5-C_6 et C_2-C_3 (*figure 19*).

La *figure 19* montre que les points représentant les différentes conformations sur le cercle des conformations sont symétriques deux à deux par rapport à l'axe Δ_1 , qui est l'axe de symétrie du cercle des conformations. Celui-ci n'est pas entièrement parcouru. En effet, θ varie de -60° à $+60^\circ$, le cyclohexane étant une molécule à rotation limitée.

Dans le paragraphe suivant, nous allons voir que le choix de la liaison de référence est imposé par la présence de substituants sur le cyclohexane.

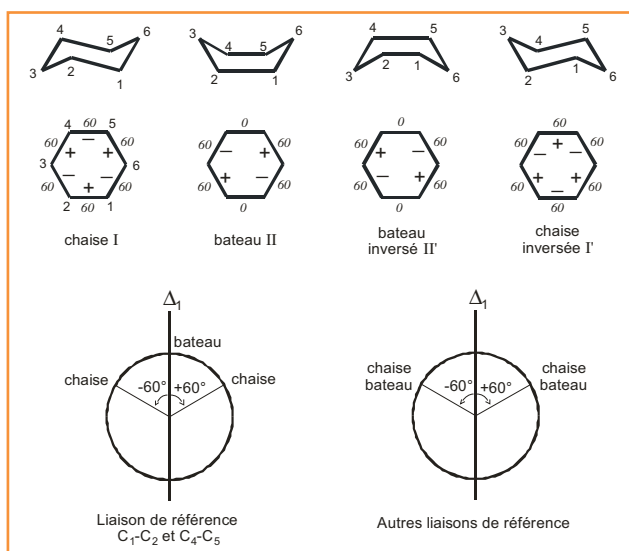


Figure 19 - Le cercle des conformations du cyclohexane chaise et bateau selon la liaison de référence choisie (représentation avec des angles dièdres de 60°).

(1S,2R)-dichlorocyclohexane (cis)

Dans le *cis*-1,2-dichlorocyclohexane, C_1-C_2 est la liaison de référence, et l'angle θ à considérer est l'angle dièdre $Cl-C_1-C_2-Cl$. Cette molécule présente une rotation limitée avec $-60^\circ \leq \theta \leq +60^\circ$. Ici le cercle des conformations n'est pas entièrement parcouru. La moitié supérieure du rayon porté par l'axe Δ_1 constitue un axe de symétrie du cercle des conformations (*figure 20*). Cette partie du cercle des conformations est parcourue deux fois selon que l'on passe par I ou par III.

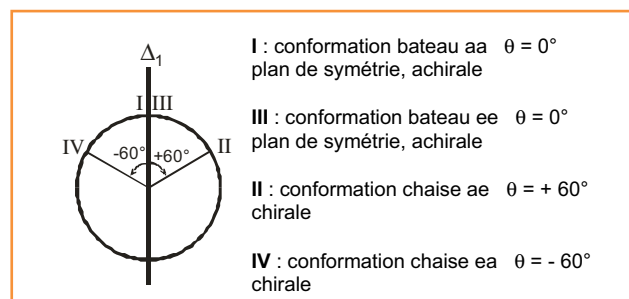


Figure 20 - Le cercle des conformations pour le *cis*-1,2-dichlorocyclohexane.

Les conformations II et IV sont énantiomères.

La *figure 21* donne une représentation perspective et en Newman des conformations I, III (groupe C_s) achirales, et II, IV (groupe C_1) chirales du *cis*-1,2-dichlorocyclohexane.

Pour aller d'une conformation chirale II à son énantiomère IV, on passe par l'une ou l'autre des conformations I ou III achirales. Le *cis*-1,2-dichlorocyclohexane est une molécule à un axe de symétrie Δ_1 sur le cercle des conformations avec deux conformations achirales. Les conformations chaise II et IV constituent un racémique dynamique, et un échantillon de *cis*-1,2-dichlorocyclohexane a un pouvoir rotatoire nul par compensation.

On pourrait penser qu'il y a un autre chemin que les conformations intermédiaires I et III pour aller de la conformation IV à son énantiomère II. Or le passage de IV à son

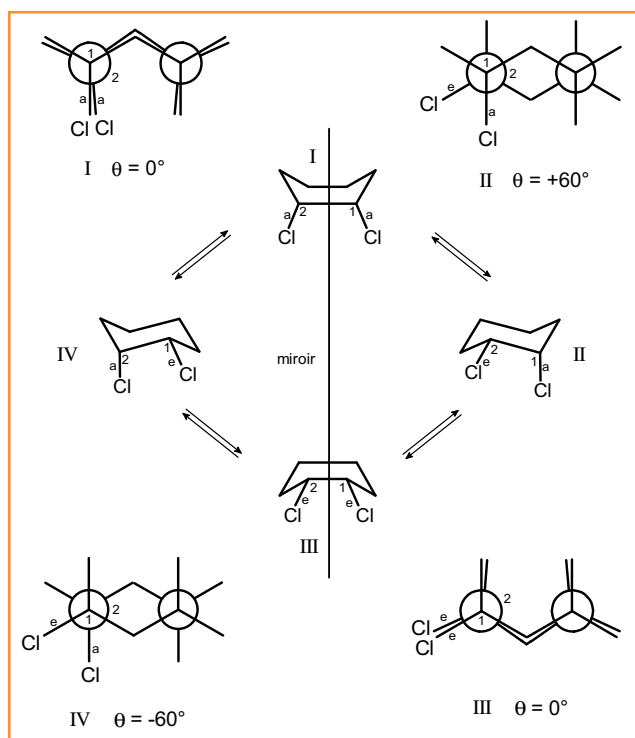


Figure 21 - Quatre conformations du (1S,2R)-dichlorocyclohexane (*cis*), I et III achirales ($\theta = 0^\circ$), II et IV énantiomères ($\theta = \pm 60^\circ$). Les conformations demi-chaîse et croisées chirales ne sont pas représentées.

énantiomère II doit obligatoirement passer par l'annulation du pouvoir rotatoire, donc par un intermédiaire achiral. Parmi toutes les conformations intermédiaires envisageables (formes demi-chaîse, formes croisées et formes bateau), les conformations bateau I et III sont les seules à être achirales.

(1R,2R)-dichlorocyclohexane (*trans*)

Le *trans*-1,2-dichlorocyclohexane existe sous deux formes énantiomères. On est donc ramené au cas des molécules chirales avec deux cercles des conformations distincts et un axe de symétrie M positionné entre eux.

Mais ici la rotation est restreinte avec $60^\circ \leq |\theta| \leq 180^\circ$ (figure 22). Le cercle des conformations n'est pas entièrement parcouru. La figure 23 donne une représentation perspective et en Newman des conformations I', III' (groupe C_2) chirales dissymétriques et II' (groupe C_1) chirale asymétrique de l'énantiomère E' du *trans*-1,2-dichlorocyclohexane ($\theta < 0^\circ$) (les conformations demi-chaîse et croisées chirales ne sont pas représentées).

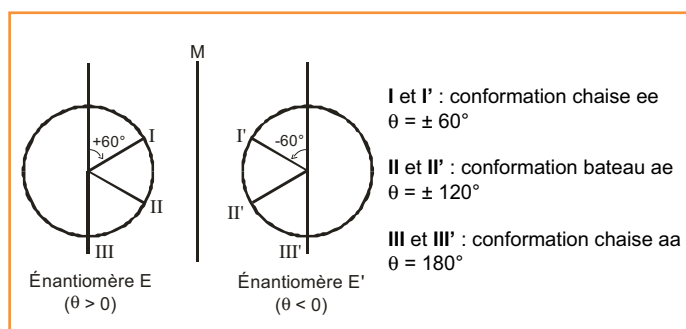


Figure 22 - Le cercle des conformations des deux énantiomères E et E' du *trans*-1,2-dichlorocyclohexane.

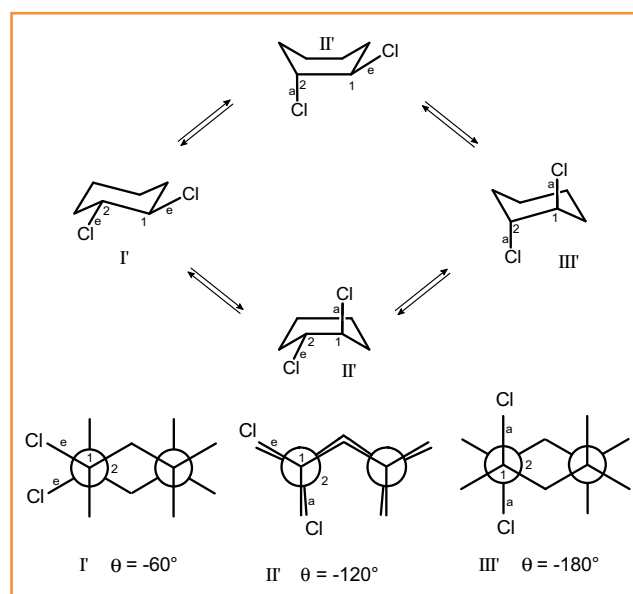


Figure 23 - Trois conformations de l'énantiomère E' du (1R,2R)-dichlorocyclohexane (*trans*) I' ($\theta = -60^\circ$), II' ($\theta = -120^\circ$) et III' ($\theta = -180^\circ$).

Conclusion

Nous avons appliqué le cercle des conformations à l'étude de la chiralité et de l'activité optique des molécules mobiles après avoir fait le choix, dans chaque cas, de la liaison de référence.

Pour une molécule mobile optiquement active, dont toutes les conformations sont chirales, chaque énantiomère possède son propre cercle des conformations. Aucun axe de symétrie ne coupe le cercle des conformations, mais un axe de symétrie M est situé à égale distance entre les deux cercles de conformations relatifs aux deux énantiomères.

Dans le cas des molécules mobiles optiquement inactives, toutes les conformations sont représentées par un point du cercle des conformations qui, ici, est unique. Il existe alors un ou plusieurs axes de symétrie Δ qui coupent le cercle des conformations en deux points correspondant chacun à une conformation achirale. Les conformations dont les points du cercle sont situés de part et d'autre de l'axe de symétrie Δ sont énantiomères deux à deux. On a mis ainsi en évidence l'existence d'un racémique dynamique. Quand on décrit le cercle des conformations en faisant varier l'angle θ , le passage par le point d'intersection de l'axe Δ avec le cercle des conformations (qui représente une conformation achirale) correspond à un point d'annulation et d'inversion du pouvoir rotatoire lié au racémique dynamique. Pour chaque axe Δ , il y a deux points d'intersection avec le cercle des conformations correspondant à deux conformations achirales. Donc quel que soit le nombre d'axes de symétrie Δ , une molécule mobile optiquement inactive aura toujours un nombre pair de conformations achirales⁽⁴⁾, d'où la règle de parité : **une molécule mobile optiquement inactive possède toujours un nombre pair de conformations achirales à côté d'une infinité de conformations chirales énantiomères deux à deux**. Cette règle est une conséquence du fait qu'une molécule chirale existe toujours théoriquement sous la forme d'une paire d'énantiomères.

Le cercle des conformations est donc un moyen efficace pour comprendre dans le détail la chiralité et l'activité optique des molécules mobiles.

L'auteur remercie avec gratitude le professeur Alain Fruchier de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier pour ses suggestions et les discussions que nous avons eues sur ce sujet, ainsi que pour l'exécution des figures de cet article.

Notes et références

- (1) Le lecteur qui n'est pas familiarisé avec la théorie des groupes ponctuels de symétrie appliquée à la stéréochimie peut se reporter à : Collet A., Crassous J., Dutasta J.-P., Guy L., *Molécules chirales*, EDP Sciences/CNRS Éditions, 2006, p. 45-54.
- (2) Une molécule mobile, par suite de rotation autour de certaines de ses liaisons, existe dans plusieurs conformations.
- (3) Le terme *conformère* est généralement réservé à un isomère de conformation correspondant à un minimum d'énergie.
- (4) Le cas d'un atome d'azote asymétriquement substitué qui s'inverse est différent. Avec l'atome d'azote, on passe d'un énantiomère à l'autre par un seul intermédiaire plan achiral. Il ne s'agit pas d'un équilibre conformationnel mais d'une inversion de configuration.
- [1] Cahn R.S., Ingold C.K., Prelog V., Specification of molecular chirality, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1966**, 5, p. 385.
- [2] Klyne W., Prelog V., Description of steric relationships across single bonds, *Experientia*, **1960**, 16, p. 521.
- [3] Fantoni R., van Helroort K., Knippers W., Reuss J., Direct observation of torsional levels in Raman spectra of C_2H_6 , *Chem. Phys.*, **1986**, 110, p. 1.
- [4] Dunlap B.I., Cook M., LCAO- $X\alpha$ calculations of rotational energy barriers. Prototypes of chemical reactions, *Int. J. Quantum Chem.*, **1986**, 29, p. 767.
- [5] Dosen-Micovic L., Jeremic D., Allinger N.L., Treatment of electrostatic effects within the molecular mechanics method, *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, p. 1723.
- [6] Almennigen A., Bastiansen O., Fernholt L., Cyvin B.N., Cyvin S.J., Samdal S., Structure and barrier of internal rotation of biphenyl derivatives in the gaseous state. Part 1. The molecular structure and normal coordinate analysis of normal biphenyl and perdeuterated biphenyl, *J. Mol. Struct.*, **1985**, 128, p. 59.
- [7] Brock C.P., Minton R.P., Systematic effects of crystal-packing forces: Biphenyl fragments with H atoms in all four ortho positions, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, p. 4586.
- [8] Christie G.H., Kenner J.H., The molecular configurations of polynuclear aromatic compounds. Part 1. The resolution of γ -6:6'-dinitro- and 4:6:4':6'-tetranitro-diphenic acids into optically active components, *J. Chem. Soc. Trans.*, **1922**, 121, p. 614.
- [9] Carriera L.A., Determination of the torsional potential function of 1,3-butadiene, *J. Chem. Phys.*, **1975**, 62, p. 3851.
- [10] Lambert J.B., Nienhuis R.J., Finzel R.B., The influence of anisotropic motion on the barrier to methyl rotation in *p*-toluenes, *J. Phys. Chem.*, **1981**, 85, p. 1170.
- [11] Haaland A., Molecular structure and bonding in the 3d metallocenes, *Acc. Chem. Res.*, **1979**, 12, p. 415.
- [12] Schlögl K., Configurational and conformational studies in the metallocene field, *Pure Appl. Chem.*, **1970**, 23, p. 413.
- [13] Eliel E.L., Wilen S.H., *Stéréochimie des composés organiques*, Tec & Doc, **1996**, p. 701.
- [14] Bucourt R., The torsion angle concept in conformational analysis, *Topics in Stereochemistry*, E.L. Eliel, N.L. Allinger (eds), Wiley, **1974**, vol. 8, p. 159-224.
- [15] Toromanoff E., Bucourt R., Analyse conformationnelle : la détermination des conformères primaires de réaction à l'aide de la notation des angles de torsion, *Tetrahedron Letters*, **1976**, p. 3523.



Valdo Pellegrin

est maître de conférence honoraire de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier*.

* École Nationale Supérieure de Chimie, 403 rue Floréal, F-34090 Montpellier.
Courriel : pellegrin.valdo@wanadoo.fr

PC
udppc

L'Union des professeurs de physique et de chimie
Une association d'enseignants
au service des enseignants
www.udppc.asso.fr

CONSULTEZ BupDoc
http://udppc.asso.fr/bupdoc

CONGRÈS
Orléans
27-30 oct.
2013

ENVOYEZ DES ARTICLES
lebup.secretaire@udppc.asso.fr

Le Bup
une revue scientifique
Tous les Bup
de 1907 à ce jour
en téléchargement gratuit
pour toute adhésion
et abonnement
abonnement@udppc.asso.fr

Siège social et courrier : 42, rue Saint-Jacques - 75005 PARIS
Tél. : 01 40 46 83 80 - Fax : 01 46 34 76 61
http://www.udppc.asso.fr

La synthèse de la dibenzalacétone

Un exemple de TP d'investigation de chimie organique

Laurent Heinrich

Résumé	Les activités expérimentales trop directives ne permettent pas à un étudiant de s'initier à une véritable démarche de recherche scientifique pour résoudre un problème posé. La démarche d'investigation, au cours de laquelle il est amené à prendre des initiatives, répond à cette problématique. Cet article explique le déroulement d'un TP d'investigation de chimie organique réalisée en deuxième année de CPGE (classes préparatoires aux grandes écoles), qui a pour but de préparer la dibenzalacétone, de l'isoler du milieu réactionnel, de la purifier et de la caractériser.
Mots-clés	Enseignement, travaux pratiques, démarche d'investigation, synthèse organique, dibenzalacétone.
Abstract	An example of organic chemistry investigation lab work: synthesis of dibenzalacetone Too directives experimental activities do not allow a student to learn a real scientific research approach to solve a problem. This paper presents the course of an organic synthesis lab investigation in which the student is asked to take initiative. The lab session was conducted in the second year of CPGE, « classe préparatoire aux grandes écoles », and aimed to synthesize, purify and characterize the dibenzalacetone.
Keywords	Teaching, lab work, investigative approach, organic synthesis, dibenzalacetone.

De nombreuses activités expérimentales proposent aux étudiants de suivre un protocole déjà établi et testé par leur professeur. Ce type d'activités permet d'illustrer expérimentalement des notions théoriques de cours tout en formant les étudiants aux différentes techniques de manipulation. Cependant, ces séances trop directives ne leur permettent pas de conduire une véritable démarche de recherche scientifique au cours de laquelle ils seraient amenés à faire preuve d'initiative pour concevoir des méthodes de résolution, formuler et vérifier des hypothèses, observer et interpréter des phénomènes expérimentaux et mettre au point des protocoles.

Les démarches d'investigation peuvent répondre à cette problématique. Un étudiant est d'ailleurs confronté à ce type de démarche tout au long de sa scolarité. Ces activités sont préconisées dans les programmes de sciences physiques au collège [1] et au lycée [2]. Les étudiants peuvent aussi se familiariser avec cette démarche d'investigation dans le cadre des TPE (travaux personnels encadrés, au lycée) ou des TIPE (travaux d'initiative personnelle encadrés, en classe préparatoire aux grandes écoles (CPGE)). Quelques articles récents proposent des exemples de TIPE [3-4]. L'initiative et la créativité expérimentales des étudiants peuvent également être sollicitées au cours de séances de travaux pratiques (TP), nécessairement plus limitées dans le temps. Quelques articles récents donnent des exemples de TP d'investigation [5-9].

Une séquence expérimentale complète de chimie organique demande en général davantage de temps qu'en chimie minérale, en raison notamment de montages expérimentaux plus volumineux, de temps de réaction plus longs, de la nécessité d'isoler, de caractériser, voire de purifier le produit organique souhaité. Pour répondre à la contrainte horaire, un TP d'investigation en chimie organique peut proposer d'étudier une réaction assez rapide, d'une durée inférieure à une

demi-heure, durant laquelle la suite de la réflexion d'investigation peut être menée. Cet article propose un exemple de TP d'investigation de chimie organique qui a pour but de synthétiser la dibenzalacétone, de l'isoler du milieu réactionnel, de la purifier et de la caractériser. Cette séance de 2 h 30 a été réalisée par des groupes d'une vingtaine d'élèves au cours de la deuxième année de CPGE dans la filière physique-chimie (classe de PC). Elle a été proposée après trois séances préalables de chimie organique. Deux séances dirigées avaient pour objectifs d'analyser des protocoles expérimentaux imposés et de revoir les principales techniques permettant de synthétiser, d'isoler, de purifier et de caractériser un composé organique : montage de chauffage à reflux, extraction liquide-liquide, distillation fractionnée, recristallisation, prise de point de fusion, chromatographie sur couche mince, etc. La troisième séance préalable, analogue à une activité récemment décrite [9], invitait les étudiants à une démarche d'investigation permettant d'isoler et de caractériser une huile essentielle obtenue par hydrodistillation. Ce TP intervient également après le cours portant sur les dérivés carbonyles (aldéhyde et cétone), au programme de chimie en deuxième année dans la filière PC en CPGE [10]. L'énoncé du sujet fourni aux élèves se trouve dans l'encadré 1. La synthèse de la dibenzalacétone par cétoaldisation croisée entre le benzaldéhyde et la propanone est assez classique [11]. Un exemple de protocole expérimental, non fourni aux élèves, est indiqué dans l'encadré 2.

Gestion du temps

Le TP ainsi formulé est conçu pour une durée de 2 h 30. Les étudiants se répartissent en binômes et découvrent le sujet en entrant dans la salle. Le temps de prendre connaissance du sujet proposé, du matériel et des produits chimiques

Encadré 1

Énoncé proposé aux élèves

TP : Aldéhyde et cétone

I. Préparation de la dibenzalacétone

But : Proposer un protocole expérimental pour préparer, isoler et purifier la dibenzalacétone (ou 1,5-diphénylpenta-1,4-diène-3-one) à partir de benzaldéhyde et de propanone (acétone) en utilisant les autres réactifs et le matériel disponibles.

1) Synthèse de la dibenzalacétone

Proposer des conditions expérimentales pour obtenir la dibenzalacétone à partir de benzaldéhyde et d'acétone. Écrire l'équation-bilan de la réaction envisagée et préciser le nom de la transformation.

Pour la synthèse, on utilisera 2,5 mL (0,025 mole) de benzaldéhyde. Proposer des conditions précises pour obtenir la dibenzalacétone : quantité des réactifs, solvant, montage expérimental, ordre d'introduction des réactifs...

Appeler le professeur avant d'effectuer les manipulations.

2) Traitement du milieu réactionnel et purification de la dibenzalacétone

Pendant la réaction :

Proposer un protocole permettant d'isoler la dibenzalacétone du milieu réactionnel. On obtient alors la dibenzalacétone brute, c'est-à-dire contenant des impuretés.

Proposer une méthode pour purifier la dibenzalacétone brute obtenue. Proposer deux méthodes précises pour contrôler la pureté de la dibenzalacétone brute et de la dibenzalacétone purifiée.

Appeler le professeur avant d'effectuer toutes ces manipulations.

Ne pas oublier de peser le produit brut et le produit purifié pour le calcul du rendement.

II. Identification de la dibenzalacétone obtenue

1) Proposer plusieurs méthodes permettant de caractériser la dibenzalacétone obtenue.

2) Test à la DNPH : aldéhyde ou cétone

Dans un tube à essai, introduire environ 5 mL de solution acide de DNPH puis ajouter un peu de dérivé carbonyle (3 gouttes de propanone, de benzaldéhyde ou un peu de dibenzalacétone obtenue).

III. Compte rendu

1. Rappeler le bilan de la réaction et les conditions expérimentales utilisées pour préparer, isoler et purifier la dibenzalacétone. Préciser les masses de produit brut et de produit purifié obtenus.

2. Calculer le rendement en produit brut, puis le rendement après purification.

3. Écrire le mécanisme de la réaction.

4. Donner la structure de certains produits secondaires susceptibles d'être obtenus lors de la synthèse.

5. Indiquer les conditions expérimentales utilisées pour contrôler la pureté du produit brut et celle du produit purifié. Donner et commenter les résultats expérimentaux obtenus lors de ces deux contrôles.

6. Rappeler le principe de la recristallisation.

7. Rappeler le principe de la technique d'analyse par CCM et la décrire brièvement. Dans quel cas peut-on révéler aux UV ? Quel est l'intérêt du produit fluorescent déposé sur la CCM ?

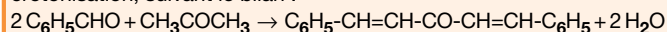
8. Donner le résultat du test à la DNPH et commenter. Proposer un mécanisme pour la réaction.

disponibles (voir encadré 3), les groupes proposent assez rapidement au professeur des conditions expérimentales pour préparer la dibenzalacétone. Après discussion avec le professeur qui valide ou complète la proposition de protocole, les binômes commencent la synthèse au bout de 30 minutes environ pour les plus rapides et au bout de 50 minutes pour les plus lents. Pendant le déroulement de la réaction (25 min

Encadré 2

Exemple de protocole, non fourni aux élèves

Deux molécules de benzaldéhyde réagissent sur une molécule d'acétone en milieu basique par double cétolisation suivie d'une double crotonisation, suivant le bilan :



Mode opératoire

Introduire 10 mL d'eau distillée dans un erlenmeyer de 100 mL et y dissoudre 1 g de soude en pastille. Mettre sous agitation.

Préparer d'autre part dans un petit bécher, une solution S contenant 1 mL (0,0125 mole) d'acétone et 2,5 mL (0,025 mole) de benzaldéhyde dans 10 mL d'éthanol. Verser cette solution S sur la solution de soude contenue dans l'erlenmeyer et agiter vigoureusement pendant 20-25 min. La dibenzalacétone commence à précipiter (solide floconneux jaune) après environ 5 min de réaction. À la fin de la réaction, abandonner le mélange pendant 5 min dans l'eau froide.

Traitement du milieu réactionnel, contrôle de pureté, purification

Filter le produit sur Büchner, le laver à l'eau distillée froide. Le sécher puis peser. Mesurer le point de fusion du produit brut sur le banc Köfler (litt. 113 °C).

Procéder à une recristallisation du produit brut dans un minimum d'éthanol en utilisant un montage à reflux. Filtrer ensuite le produit sur Büchner, laver à l'éthanol froid, sécher puis peser. Mesurer le point de fusion sur le banc Köfler.

Pendant la durée de la recristallisation, mettre en œuvre la chromatographie sur couche mince (CCM) : dissoudre quelques gouttes (1 à 3) de benzaldéhyde dans environ 1 mL d'acétate d'éthyle. Dissoudre quelques grains de dibenzalacétone brute dans environ 1 mL d'acétate d'éthyle. Prévoir trois dépôts d'échantillons sur la plaque de silice : un dépôt de solution de benzaldéhyde, un dépôt de solution de dibenzalacétone brute et, après la recristallisation, un dépôt de dibenzalacétone recristallisée (dissoute dans l'acétate d'éthyle). L'éluant est constitué d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 80/20 ou 85/15. Révéler sous la lampe UV à 254 nm.

Encadré 3

Matériel et produits à disposition

Matériel à disposition

Matériel classique pour les montages de chimie organique : ballons monocol et tricol rodés de 250 mL, valet, ampoule de coulée isobare, réfrigérant droit, thermomètre, chauffe-ballon agitateur, réfrigérant à boules, colonne de Vigreux, support élévateur, pinces, noix, matériel pour filtration sous vide, etc.

Ampoule à décanter de 250 mL + bouchon, entonnoir, béchers de 50 mL, erlenmeyer de 100 mL.

Éprouvettes graduées de 100 mL et 10 mL, pipettes Pasteur, pipette graduée.

6 tubes à essai + portoir.

Capillaires pour chromatographie, cuves à chromatographie.

Balance, banc de Köfler, étuve, évaporateur rotatif, lampe à UV.

Produits chimiques

Acétate d'éthyle, cyclohexane, éthanol à 95 %, acétone (propanone), benzaldéhyde.

Chlorure de sodium solide, sulfate de magnésium anhydre, hydroxyde de sodium en pastilles.

Acide sulfurique à 1 mol.L⁻¹, solution de permanganate de potassium à 0,02 mol.L⁻¹.

Solution acidifiée de 2,4-dinitrophénylhydrazine dans l'éthanol.

environ), les binômes réfléchissent à un protocole expérimental permettant d'isoler ensuite la dibenzalacétone du milieu réactionnel, puis de la purifier. Ils proposent également deux

méthodes pour vérifier la pureté du produit à l'aide du matériel disponible au lycée : utilisation de la technique de chromatographie sur couche mince (CCM) et mesure de point de fusion avec un banc Köfler. Cette phase a une durée variable (20 à 40 min). La dernière partie du TP est consacrée à la mise en œuvre du protocole expérimental proposé pour isoler la dibenzalacétone brute, à sa purification, au contrôle de pureté et à la caractérisation de ce produit par la prise du point de fusion, par CCM et test à la DNPH.

Déroulement de la séance

Synthèse de la dibenzalacétone

Après avoir représenté la structure de la dibenzalacétone (ou 1,5-diphénylpenta-1,4-diène-3-one) souhaitée, une majorité des groupes propose spontanément une séquence de céto-lisation-crotonisation en milieu basique (voir figure 1). Cette méthode classique, au programme de la filière PC, permet effectivement d'obtenir une cétone conjuguée à partir d'un aldéhyde et d'une cétone éno-lisable. La crotonisation aurait également pu être réalisée en milieu acide, mais les étudiants ont préféré conserver des conditions basiques pour limiter le nombre de manipulations, donc pour gagner du temps. Le choix de la base est imposé par la liste des réactifs disponibles pour la séance (encadré 3) : l'hydroxyde de sodium en pastilles. Certains binômes, ne raisonnant qu'à l'aide de mécanismes réactionnels, ont eu du mal à trouver rapidement le type de réaction envisageable, et donc les conditions basiques nécessaires à cette réaction. À l'aide de questions ciblées, le professeur leur montre l'intérêt de connaître les bilans, les réactifs et les conditions expérimentales des réactions de chimie organique.

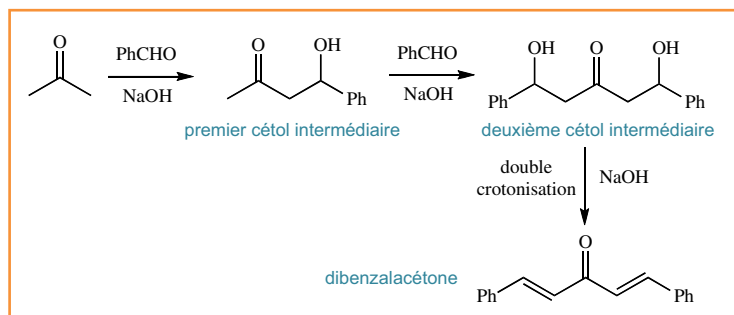
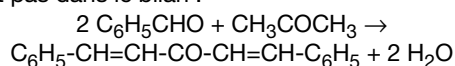


Figure 1 - Séquence de céto-lisation-crotonisation envisagée.
Ph- désigne le groupement phényle C_6H_5 .

Une fois la transformation envisagée, la deuxième étape de la réflexion consiste à proposer un protocole expérimental précis : calculer les quantités nécessaires de réactifs sachant que l'énoncé impose la quantité de benzaldéhyde (0,025 mol), la nature du solvant, le montage expérimental utilisé et l'ordre d'introduction des réactifs. L'écriture d'une équation bilan équilibrée, obtenue plus ou moins rapidement selon les binômes, permet aux étudiants de se rendre compte qu'il faut deux fois moins d'acétone (soit 0,0125 mol) que de benzaldéhyde et qu'une quantité catalytique de soude serait suffisante puisque les ions hydroxyde n'interviennent pas dans le bilan :



Le professeur valide le choix des proportions stœchiométriques entre le benzaldéhyde et l'acétone, et précise la

quantité de soude à utiliser (1 g à dissoudre dans 10 mL d'eau) puisque la concentration en ion hydroxyde est importante du point de vue cinétique. Certains binômes déterminent rapidement la quantité d'acétone liquide à prélever, par mesure de la masse ou du volume d'acétone pure. Cependant, de nombreux binômes ont eu des difficultés pour déterminer le volume d'acétone à prélever, ce qui nécessitait notamment de chercher la densité de l'acétone ($d = 0,79$), donnée disponible sur les bouteilles commerciales. Une aide bienveillante de leur professeur leur permettait d'obtenir la valeur du volume d'acétone à prélever (0,9 mL, prélevés avec une pipette graduée).

Le choix du solvant a aussi nécessité de l'aide de la part du professeur. La majorité des binômes propose d'utiliser de l'eau puisqu'il s'agit de solubiliser l'hydroxyde de sodium. Certains binômes ont fait un test en mélangeant le benzaldéhyde, l'acétone et la solution aqueuse de soude et observent un précipité blanc, qu'ils identifient comme étant de l'hydroxyde de sodium, donc pas ou très peu soluble dans le mélange des trois solvants eau-acétone-benzaldéhyde. Si l'acétone est bien soluble dans l'eau, le benzaldéhyde ne l'est que très peu, ce qui nécessite l'utilisation d'un autre co-solvant organique miscible à l'eau : l'éthanol à 95 %. La quantité de solvant peut être indiquée par le professeur (10 mL d'éthanol, en plus des 10 mL d'eau nécessaires à dissoudre l'hydroxyde de sodium).

La grande majorité des binômes choisit ensuite de diluer le benzaldéhyde et l'acétone dans 10 mL d'éthanol avant d'ajouter le mélange sur la solution de soude préalablement préparée (1 g d'hydroxyde de sodium dans 10 mL d'eau). Quasiment tous les étudiants proposent aussi de réaliser la réaction en chauffant à reflux, se souvenant que l'étape de crotonisation est relativement difficile en milieu basique puisque l'ion HO^- est un mauvais nucléofuge. L'expérience montre que ce chauffage conduit assez rapidement à des produits de dégradation de la dibenzalacétone (obtention d'un produit visqueux dans ces conditions). Le professeur doit préciser que la réaction peut se faire à température ambiante car la molécule obtenue est fortement stabilisée par délocalisation électronique. Les binômes utilisent donc simplement un erlenmeyer et un agitateur magnétique pour effectuer leur réaction à 20 °C (figure 2).

À noter que le benzaldéhyde s'oxyde lentement en acide benzoïque au contact de l'air. L'acide benzoïque formé n'est pas gênant puisqu'il est éliminé dans la phase aqueuse sous forme d'anion benzoate. Il peut être néanmoins souhaitable d'utiliser du benzaldéhyde neuf ou distillé pour obtenir des rendements satisfaisants.

Traitement du milieu réactionnel et purification du produit

Pendant le déroulement de la réaction, les binômes réfléchissent à un protocole expérimental permettant d'isoler ensuite la dibenzalacétone du milieu réactionnel, puis de la purifier. L'apparition d'un précipité jaune après environ 5 minutes de réaction dans les conditions expérimentales utilisées (figure 2) conduit les binômes à proposer de filtrer le milieu réactionnel sur Büchner après réaction, puis de laver le solide jaune avec de l'eau distillée, de l'essorer puis le sécher. Lors de la discussion avec le professeur, la plupart des binômes précise que le lavage à l'eau permet d'éliminer les ions sodium et hydroxyde. Deux groupes ont également proposé de laver le précipité avec de l'éthanol après le lavage à l'eau, pour éliminer ensuite plus facilement l'eau



Figure 2 - Milieu réactionnel sous agitation magnétique ; formation du précipité de dibenzalacétone.

restée au contact du solide (le rendement en produit brut est alors plus faible car la dibenzalacétone est un peu soluble dans l'éthanol froid).

Tous les binômes ont ensuite proposé la technique de recristallisation pour purifier la dibenzalacétone obtenue, méthode appropriée pour la purification d'un solide. La difficulté expérimentale de cette technique est de trouver un bon solvant de recristallisation dans lequel les solubilités en fonction de la température de la dibenzalacétone et de ses impuretés doivent être assez différentes. Remarquant que la dibenzalacétone n'était pas soluble dans le milieu réactionnel, de nombreux groupes ont proposé d'utiliser l'éthanol à 95 % comme solvant de recristallisation, pensant que la dibenzalacétone n'y serait que très peu soluble à froid, davantage soluble à chaud, ce qui permettrait de former des cristaux de meilleure qualité par refroidissement lent d'une solution chaude de dibenzalacétone brute. Un test ultérieur n'utilisant qu'une petite quantité de produit brut les conforte dans leur choix. Cependant, peu de binômes ont précisé que des impuretés comme les cétoles formés au cours de la réaction (figure 1) seraient ainsi éliminées. En effet, grâce aux liaisons hydrogène impliquant les fonctions alcool, on s'attend à ce que les cétoles soient plus solubles dans l'éthanol froid que la dibenzalacétone. Les autres groupes sont rapidement aidés dans leur choix par le professeur, qui peut les amener à réfléchir sur les différents types de solvants et d'interactions soluté-solvant. Ainsi, un solvant très protique comme l'eau pure, proposée par certains groupes comme solvant de recristallisation, n'est pas envisageable car il risque de ne pas solubiliser la dibenzalacétone quelle que soit la température. Le choix d'un solvant polaire aprotique comme l'acétate d'éthyle s'avère également inadapté puisqu'il solubilise très bien la dibenzalacétone à froid, ce qui peut être facilement mis en évidence par un test sur une petite quantité de produit brut.

Vérification de la pureté de la dibenzalacétone brute et purifiée

Les étudiants proposent ensuite deux méthodes pour vérifier la pureté du produit à l'aide du matériel disponible au lycée. La première méthode proposée est la mesure de point de fusion sur un banc Köfler, ce qui nécessite de connaître le

point de fusion de la dibenzalacétone pure (113 °C). Les binômes la trouvent dans la littérature à disposition dans la salle de TP [12].

La deuxième méthode proposée est la technique de chromatographie sur couche mince de silice (CCM). Remarquant que les produits à analyser sont conjugués, la très grande majorité des groupes propose de révéler les plaques à l'aide des UV. Avant de commencer les éluions, certains groupes ont vérifié, grâce aux sensibilisateurs fluorescents déposés sur les plaques de CCM, que les composés à analyser absorbaient bien les UV. En revanche, le choix de l'éluant s'avère plus délicat, car il faut en trouver un permettant de faire migrer le benzaldéhyde initial, la dibenzalacétone et les impuretés à des vitesses différentes. Se souvenant d'un précédent TP d'investigation utilisant notamment la technique de CCM [9], les binômes ont choisi d'utiliser des mélanges de cyclohexane-acétate d'éthyle comme éluant. Pour gagner du temps, le professeur peut encourager les binômes à se partager le travail pour tester les proportions adéquates de ces deux solvants. Certains binômes assez rapides ont le temps de commencer à tester expérimentalement un éluant pour lequel le benzaldéhyde commercial a un rapport frontal raisonnable (de l'ordre de 0,5). Les autres binômes ont testé leur éluant directement avec le benzaldéhyde et la dibenzalacétone brute, après l'avoir isolée. La figure 3 montre les résultats obtenus pour quelques éluants testés. Le cyclohexane pur ou le mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 60/40 se révèlent inopérants puisque le premier ne fait pas migrer suffisamment le benzaldéhyde et la dibenzalacétone et que le second les fait migrer trop rapidement pour pouvoir vraiment différencier les deux composés. En revanche, les mélanges cyclohexane/acétate d'éthyle 90/10 ou 85/15 ou 80/20 s'avèrent être judicieux puisqu'ils permettent de distinguer le benzaldéhyde et la dibenzalacétone. De plus, l'élution de la dibenzalacétone brute montre la présence de plusieurs taches, ce qui indique que ces trois éluants permettent également de séparer la dibenzalacétone et d'autres impuretés comme les cétoles intermédiaires (figure 1). On peut également noter que ces éluants (cyclohexane/acétate d'éthyle 90/10 ou 80/20) mettent en évidence que le benzaldéhyde disponible n'est pas pur (présence d'une tache à un rapport frontal plus faible, due à de l'acide benzoïque issu de l'oxydation partielle du benzaldéhyde par le dioxygène de l'air).

La dernière partie du TP est consacrée à la mise en œuvre du protocole expérimental proposé pour isoler la dibenzalacétone brute, la purifier, contrôler sa pureté et caractériser ce produit par la prise du point de fusion, par CCM et test à la DNPH. Pour gagner du temps, le professeur peut inviter les binômes à isoler la dibenzalacétone brute avant de tester des éluants (cf. plus haut) et également à effectuer les manipulations relativement courtes comme les mesures de point de fusion et les tests à la DNPH durant les éluions dans les cuves à chromatographie ou la recristallisation.

Résultats obtenus par les étudiants

Dibenzalacétone brute et tests de pureté

La grande majorité des binômes a choisi de filtrer puis laver le précipité jaune obtenu avec de l'eau distillée uniquement. Après essorage sur Büchner, puis séchage, ils ont

obtenu de 3,6 à 5,5 g de produit brut. Les rendements correspondants sont nettement supérieurs à 100 % (120 à 190 %), ce qui témoigne notamment d'un séchage insuffisant du solide brut par beaucoup de binômes. Les points de fusion mesurés sur banc Köfler sont compris entre 104 et 108 °C dans ce cas, différent de celui de la littérature (113 °C) [12]. L'analyse du produit brut par CCM, avec un éluant constitué du mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 85/15 ou 80/20, montre deux ou trois taches selon les groupes (figures 3 et 4). Ces deux résultats montrent bien que la dibenzalacétone brute obtenue ainsi n'est pas pure.

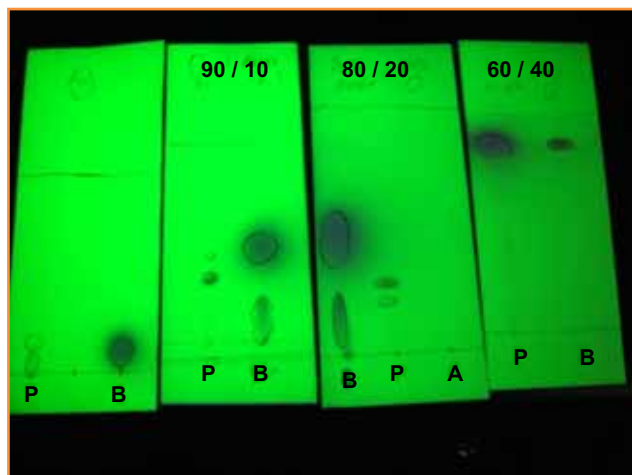


Figure 3 - Plaques de CCM obtenues après migration du benzaldéhyde commercial B et de la dibenzalacétone brute P, puis révélation aux UV.

Les différents éluants utilisés sont (de gauche à droite) : le cyclohexane pur, un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle en proportion volumique 90/10, un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 80/20 et un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 60/40.

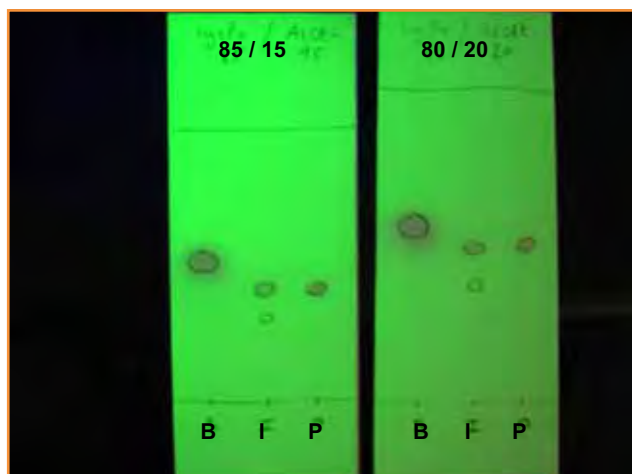


Figure 4 - Plaques de CCM obtenues après migration du benzaldéhyde commercial B, de la dibenzalacétone brute I et de la dibenzalacétone recristallisée P, puis révélation aux UV.

L'éluant est un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle, en proportions volumiques 85/15 à gauche et 80/20 à droite.

Deux binômes ont également lavé le précipité avec de l'éthanol après le lavage à l'eau, pour éliminer ensuite plus facilement l'eau restée au contact du solide. Le rendement en produit brut est alors plus faible (1,6 à 1,9 g de produit brut obtenu, soit un rendement compris entre 55 et 65 %), ce qui est attendu puisque l'eau est éliminée et que la dibenzalacétone est un peu soluble dans l'éthanol froid. En

revanche, le produit obtenu est plus pur. En effet, le point de fusion mesuré est de 113 °C pour les deux binômes, exactement celui de la littérature, et la CCM du produit brut ne montre qu'une seule tache. Il semble donc que le simple lavage du produit brut à l'éthanol froid suffit à éliminer la plupart des impuretés.

Purification de la dibenzalacétone et test de pureté

Tous les binômes ont eu le temps de réaliser le montage de chauffage à reflux destiné à la recristallisation de la dibenzalacétone dans un minimum d'éthanol. Plus des 3/4 des groupes ont ainsi réussi à obtenir des cristaux de meilleure qualité que le précipité de dibenzalacétone brute (figure 5). Après filtration et essorage sur Büchner, ils ont obtenu de 0,5 à 1,7 g de dibenzalacétone recristallisée, soit des rendements compris entre 17 et 58 %, tout à fait habituels après une purification par recristallisation. Les points de fusion mesurés sur banc Köfler, compris entre 109 et 114 °C, se sont tous rapprochés de la valeur de la littérature, ce qui prouve que la recristallisation a permis d'éliminer des impuretés. Cette observation est confirmée par l'analyse du produit recristallisé par CCM, avec un éluant constitué du mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 85/15 ou 80/20 (figure 4). Alors que l'analyse par CCM de la dibenzalacétone brute conduit en général à deux ou trois taches selon les binômes, la dibenzalacétone recristallisée ne montre plus qu'une seule tache, sauf pour deux groupes pour lesquels deux taches sont encore visibles, en cohérence avec un point de fusion observé de 109 °C, le plus éloigné de celui de la littérature.

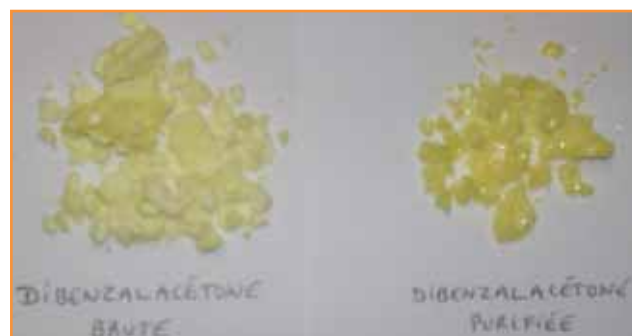


Figure 5 - Dibenzalacétone brute (à gauche) et cristaux de dibenzalacétone recristallisée (à droite).

Ces résultats indiquent que la dibenzalacétone a été purifiée par recristallisation, même si une deuxième recristallisation serait nécessaire pour certains groupes. Les autres groupes n'ont pas obtenu de cristaux après refroidissement de la solution alcoolique de dibenzalacétone pendant la durée de la séance, à cause d'une cristallisation trop lente lors du refroidissement ou d'une quantité trop importante d'éthanol solubilisant toute la dibenzalacétone à froid. Une évaporation d'une partie de l'éthanol à l'évaporateur rotatif aurait permis de refaire une recristallisation dans les règles de l'art, mais la contrainte horaire n'a pas permis à ces groupes d'aboutir. Un groupe a également constaté la dégradation de la dibenzalacétone due à un chauffage trop long. Il convient donc de bien veiller à arrêter le chauffage dès que la dibenzalacétone brute est entièrement dissoute dans l'éthanol à reflux.

Caractérisation de la dibenzalacétone

Une majorité des étudiants a précisé que la mesure du point de fusion par comparaison avec la donnée de la littérature constituait une première caractérisation de la dibenzalacétone. D'autres ont également pensé à la CCM, à condition de disposer d'un échantillon de référence, commercial ou préalablement préparé par le professeur ou le personnel de laboratoire. De nombreux groupes ont également proposé d'identifier la dibenzalacétone par spectroscopie RMN et IR, mais le matériel correspondant n'est malheureusement pas disponible au sein du lycée. C'est pourquoi une autre caractérisation possible au lycée leur était proposée : le test à la 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH), qui permet de mettre en évidence la présence de fonction aldéhyde ou cétone dans les composés testés (l'acétone, le benzaldéhyde et la dibenzalacétone). Tous les groupes ont obtenu des tests positifs pour les trois dérivés carbonyles (*figure 6*), avec un peu d'aide pour le test utilisant la dibenzalacétone. En effet, comme la dibenzalacétone (brute ou purifiée) n'est que peu soluble dans l'éthanol (solvant du test), il a fallu la dissoudre préalablement dans un peu d'acétate d'éthyle pour obtenir un test positif, mais pas trop car l'hydrazone formée, insoluble dans l'éthanol, est en revanche soluble dans l'acétate d'éthyle. De nombreux étudiants ont observé une évolution des teintes des trois précipités d'hydrazones et certains l'ont interprétée en reliant la conjugaison des hydrazones formées à leur maximum d'absorption (effet bathochrome).

Conclusion

Le TP ainsi formulé est conçu pour une durée de 2 h 30. La majorité des groupes a réussi à terminer toutes les manipulations. Environ un tiers des binômes n'a pas eu le temps d'obtenir des cristaux après recristallisation ou d'effectuer la dernière élution du produit purifié. Ce TP permet aux étudiants de réfléchir aux différentes étapes d'un protocole expérimental permettant de synthétiser, d'isoler, de purifier et de caractériser un composé organique.

Pour des séances plus longues, le TP peut être complété par des tests caractéristiques des trois dérivés carbonyles, comme le test à la liqueur de Fehling, le test de Tollens et le test à l'iodoforme des méthylcétones. Il est également possible de filtrer les hydrazones obtenues par le test à la 2,4-DNPH, les purifier et mesurer leur point de fusion pour pouvoir caractériser le dérivé carbonyle. Si l'établissement dispose des spectromètres adéquats, on peut étudier les spectres IR et de RMN ^1H du benzaldéhyde initial et de la dibenzalacétone, ce qui permettrait de comparer les spectres obtenus avec ceux également disponibles sur Internet [13] et de caractériser encore plus précisément le composé obtenu.

L'auteur remercie le personnel du laboratoire du lycée Corneille de Rouen pour sa disponibilité et son professionnalisme.

Références

- [1] *Bulletin Officiel de l'Éducation Nationale spécial* n° 6, 28 août 2008.
- [2] Enseignement d'exploration en classe de Seconde : *Bulletin Officiel de l'Éducation Nationale spécial* n° 4, 2 avril 2010. Nouveau programme de Terminale S : *Bulletin Officiel de l'Éducation Nationale spécial* n° 8, 13 octobre 2011.



Figure 6 - Tests à la 2,4-DNPH.

De gauche à droite : solution acidifiée témoin de DNPH dans l'éthanol, puis résultats des tests avec l'acétone, le benzaldéhyde et la dibenzalacétone.

- [3] Fajerwerger K., Lalande J., Zhu S., Les nanoparticules d'or, un sujet pour les travaux pratiques d'initiative personnelle encadrés (TIPE), *L'Act. Chim.*, 2009, 335, p. 39.
- [4] Heinrich L., Heinrich A., Détermination expérimentale de l'épaisseur d'une couche de zinc d'un acier zingué. Un protocole mis au point dans le cadre d'un travail d'initiative personnelle encadré (TIPE), *L'Act. Chim.*, 2011, 351, p. 42 et *Le Bup*, 2011, 931, p. 195.
- [5] Bataille X., Beauvineau E., Cheymol N., Mas V., Vigneron M., Un TP de chimie analytique en séquence d'investigation, *L'Act. Chim.*, 2009, 333, p. 42 et *Le Bup*, 2009, 918, p. 973.
- [6] Bataille X., Beauvineau E., Cheymol N., Mas V., Vigneron M., La démarche d'investigation pour motiver les étudiants : exemple d'un TP sur la spectroscopie infrarouge, *L'Act. Chim.*, 2009, 334, p. 41.
- [7] Bataille X., Beauvineau E., Cheymol N., Mas V., Vigneron M., Investigation et analyse chimique. Un TP-défi d'analyse qualitative et quantitative... sans aucune solution préparée, *L'Act. Chim.*, 2010, 337, p. 45.
- [8] Heinrich L., Exemple de TP d'investigation : analyse d'un complexe mononucléaire du cuivre(II), *L'Act. Chim.*, 2011, 358, p. 32.
- [9] Heinrich L., Heinrich A., Exemple de TP d'investigation : extraction de l'eugénol du clou de girofle par hydrodistillation, *Le Bup*, 2011, 105, p. 1291.
- [10] Programme de l'enseignement de chimie en PC, deuxième année de CPGE, *Bulletin Officiel*, Hors-série, 16 sept. 2004, n° 6, p. 1697.
- [11] Voir par exemple : Mesplède J., Saluzzo C., *100 Manipulations de Chimie organique et inorganique*, Collection Capes et Agrégation de Sciences Physiques, Bréal, 2004, p. 98-100.
- [12] *Handbook of Chemistry and Physics*, 82^e éd., CRC Press, 2001-2002.
- [13] Les spectres réels IR et RMN de composés organiques sont disponibles par exemple sur le site Internet SDBSWeb http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi?lang=eng (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology) (numéro SDBS du benzaldéhyde : 672, de la dibenzalacétone : 4393). Voir également en annexe sur actualitechimique.org, page liée à cet article.



Laurent Heinrich

est professeur de classes préparatoires au Lycée Corneille de Rouen*.

* Lycée Pierre Corneille, 4 rue du Maulévrier, F-76044 Rouen.
Courriel : heinrich.laurent@wanadoo.fr

Nominations et distinctions

Grands Prix de l'Académie des sciences 2012

Prix Charles-Léopold Mayer : Lyndon Emsley⁽¹⁾, professeur à l'École Normale Supérieure de Lyon, Institut des sciences analytiques, Université Lyon 1. Ce chimiste de formation devenu expert réputé de la physique des spins nucléaires et de leur thermodynamique, a apporté au cours des douze dernières années des contributions fondamentales majeures en RMN du solide. Les applications qu'il a proposées ont ouvert l'accès, en chimie mais surtout en biologie, à des informations inaccessibles par d'autres techniques comme la caractérisation fine des espèces actives en catalyse sur supports solides, l'élaboration de structures tridimensionnelles, la solvatation et la dynamique interne de protéines à l'état microcristallin, et l'étude globale du « métabolome » de petits organismes. Il est aujourd'hui un des acteurs pionniers pour l'essor de la **RMN du solide en biophysique**.

Prix de la Fondation d'Entreprise EADS : Xiang Hua Zhang, directeur de recherche au CNRS, et Catherine Boussard-Pleidel, ingénieur de recherche au CNRS, Institut des sciences chimiques de Rennes. Par leur recherche sur les verres non conventionnels, ils ont largement contribué à ouvrir une fenêtre sur un monde de l'information en plein développement, celui de l'invisible, c'est-à-dire celui de la lumière infrarouge et de ses applications. Ils ont découvert de **nouveaux verres à base de sélénium et de tellure** et ont réussi la performance de les mettre en forme pour fabriquer des objets optiques comme des lentilles moulées bas coût qui équipent des caméras infrarouges, ou des fibres optiques pour capteurs ayant des applications en biologie et médecine. Deux sociétés sont nées de ces recherches : VERTEX, devenue filiale du groupe belge Umicore IR Glass, fabrique des optiques, alors que Diafir élabore des fibres infrarouges pour le diagnostic médical.

Prix Constellium : Jean-Marie Drezet, maître d'enseignement et de recherches, chercheur senior à l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne. Sa spécialité est la **modélisation des procédés d'élaboration des alliages métalliques** et en particulier des alliages d'aluminium. Il est tout spécialement connu pour avoir développé et testé dans différentes situations un

critère pour la « crique à chaud » des alliages en cours de solidification. Ses travaux s'intègrent dans une tendance profonde de la métallurgie moderne, dans une optique de modélisation intégrée des procédés d'élaboration et de mise en œuvre, en liaison avec le développement des microstructures.

Prix fondé par l'État : Michel Ephritikhine, directeur de recherche au CNRS, service interdisciplinaire sur les systèmes moléculaires et les matériaux, CEA Saclay, pour ses travaux sur la métathèse des oléfines et l'activation des alcanes, la synthèse de complexes de l'uranium présentant une réactivité originale en chimie organique et en catalyse, **sa maîtrise de la chimie de l'uranium**, qui lui permet d'étudier la différenciation des ions lanthanides et actinides trivalents, un problème important aussi bien sur le plan de la recherche fondamentale que sur celui des applications, et enfin pour son exploration du magnétisme moléculaire des composés hétérobimétalliques contenant un ion actinide. Michel Ephritikhine, devenu le spécialiste français de la chimie organométallique des uranides et des actinides, est l'un des leaders mondiaux de cette chimie moléculaire. Il reçoit également la **Médaille Berthelot**.

Prix Aymé Poirson : Michel Armand, directeur de recherche au CNRS, Laboratoire de réactivité et chimie des solides à l'Université Picardie Jules Verne à Amiens. Spécialiste mondial du **stockage électrochimique de l'énergie**, c'est le père des électrolytes polymères, de nombreux sels de lithium et de liquides, et tout récemment du matériau d'électrode le plus prisé de nos jours qu'est le LiFePO_4 enrobé de carbone. Les batteries lithium métal polymère (LMP), dont il a assuré la totalité de l'apport scientifique, sont devenues une réalité industrielle avec des voitures (Autolib') rayonnant dans tout Paris.

Retrouvez les prix thématiques Chimie dans les brèves du numéro de juin-juillet publiées sur notre site⁽²⁾ :

Florence Babonneau (prix Paul Pascal), Ludovic Jullien (**prix du Dr et de Mme Henri Labbé**), Christian Bruneau (**prix Langevin**).

• Source : www.academie-sciences.fr

(1) À lire ou (re)lire : le numéro spécial de *L'Actualité Chimique* qu'il a coordonné avec S. Caldarelli et J.-N. Dumez (« La résonance magnétique nucléaire en chimie », juin-juillet 2012, 364-365).

(2) www.lactualitechimique.org/larevue_article.php?cle=2970

Luc Oursel, président de l'ANRT



© Areva.

Luc Oursel, président du Directoire d'Areva, a été élu à la présidence de l'Association nationale de la recherche et de la technologie (ANRT)* par les membres du Conseil d'administration le 20 septembre dernier. Il succède à Louis Gallois, ancien président exécutif d'EADS, nommé Commissaire général à l'investissement en juin dernier en Conseil des ministres.

* L'ANRT rassemble les acteurs publics et privés de la recherche et de l'innovation en France. Depuis plus de trente ans, elle gère pour le compte du MESR le dispositif des conventions industrielles de formation par la recherche (CIFRE).

• Source : ANRT, 21/09/2012.

Un nouveau président au CEFIC

Kurt Bock, président du Comité exécutif de BASF, a été élu à la présidence du Conseil européen de l'industrie chimique (CEFIC)* lors de l'Assemblée générale du 28 septembre dernier. Élu pour deux ans, il succède à l'Italien Georgio Squinzi, président du groupe Mapei qui vient de prendre la tête de la Confindustria.

Le nouveau président, qui a fait toute sa carrière au sein de BASF (en Allemagne, au Brésil et aux États-Unis), souhaite développer, dans un contexte difficile, une chimie européenne compétitive par l'innovation et le développement durable.

* Le CEFIC, créé en 1972 et basé à Bruxelles, regroupe 29 000 entreprises adhérentes (un quart de la production chimique mondiale) et emploie 1,2 million de salariés. Avec un excédent brut de 42,5 milliards d'euros en 2011, la chimie européenne est seconde au rang des industries exportatrices.

• Source : UIC, 4/10/2012.

Recherche et développement

Classement de Shanghai... et chimie

Nous avons tous entendu ou lu les commentaires sur le classement des universités par l'Université de Shanghai et les pleurs sur le faible nombre d'universités françaises dans le top 100. Ayez la curiosité de consulter les classements par discipline pour améliorer votre jugement. Notamment en chimie (ARWWU - Chemistry 2012).

Juste après le podium consacré aux trois universités américaines – dans l'ordre : Harvard, Berkeley et Stanford –, on trouve les deux

premières universités européennes – Cambridge puis l'Institut fédéral de technologie de Zurich. Au-delà du dixième : Technical University de Munich (12^e), Oxford (13^e) et l'Université de Strasbourg (17^e).

Viennent ensuite de nombreuses universités européennes classées entre le rang 51 et 100. Entre les 101^e et 150^e, on note avec plaisir dans l'ordre : l'Université Joseph Fourier de Grenoble, Pierre et Marie Curie-Paris 6, Paris Diderot-Paris 7 et Claude Bernard-Lyon 1. Et au-delà, entre les 151^e et 200^e places : Paul Sabatier Toulouse 3, Montpellier 2, Paris Sud Orsay-Paris 11 et Rennes 1. Soit donc une université française dans le top 20 en chimie et neuf autres dans les 200 premières mondiales, ce qui est nettement meilleur que le quota général ! Youpi et vive la chimie !

J.-C. Bernier

• Tout le classement sur : www.shanghairanking.com

Enseignement et formation

Le devenir professionnel des « docteurs CIFRE »

L'ANRT vient de publier les résultats de l'enquête 2012 : deux tiers des docteurs intègrent tous les secteurs d'activité du privé et un tiers le milieu académique avec 25 % dans des fonctions d'enseignement et de recherche. Le dispositif CIFRE donne accès à l'emploi dans un intervalle de temps court après la thèse (90 % en 6 mois) et ne laisse quasiment personne sans emploi ; 85 % restent en France. Deux tiers des répondants affirment que leur formation doctorale a été un facteur déterminant pour l'embauche. À l'issue de la thèse, les deux tiers occupent une fonction d'ingénieur de R & D. Plus des trois quarts (81 %) ont le sentiment d'être biculturels (monde académique/entreprise). Interdisciplinarité et travail en équipe sont les compétences déclarées les plus utiles ; le docteur est appelé à sortir du cadre de ses travaux de recherche, ce à quoi le dispositif CIFRE le prépare...

• Source : ANRT, 9/10/2012.
Intégralité des résultats de l'enquête sur www.anrt.asso.fr

L'emploi des ingénieurs chimistes en 2012

La Fédération Gay-Lussac vient de donner les résultats de son enquête annuelle sur l'insertion professionnelle des jeunes ingénieurs diplômés de ses écoles (l'enquête rassemble les informations fournies par 4 657 jeunes

Prix Nobel de chimie 2012




Deux Américains, Brian K. Kobilka et Robert J. Lefkowitz, découvrent les clés du mystère des « récepteurs couplés aux protéines G ». Une porte – cellulaire et d'avenir – est ouverte à de nouvelles thérapies... et au plaisir des sens !

Le 10 octobre dernier, le prix Nobel de chimie a été décerné au biochimiste Brian K. Kobilka, de l'Université de Stanford, et au médecin-chercheur Robert J. Lefkowitz, de l'Université Duke (Caroline du Nord) pour leurs travaux complémentaires sur des molécules de signalisation entre les cellules : *les récepteurs couplés aux protéines G*. L'épopée de cette grande famille de molécules a démarré dans les années 1980, où l'équipe de R. Lefkowitz isola pour la première fois un récepteur appelé bêta-adrénergique – qui est activé par l'adrénaline. Les récepteurs sont ces grosses molécules qui traversent les membranes de nos cellules, prêtes à se lier à des molécules (des hormones comme l'adrénaline, ou une large partie des médicaments actuels), déclenchant ainsi dans la cellule une cascade de réactions qui engagent d'autres molécules de signalisation.

Puis l'équipe, qui comptait le doctorant B. Kobilka, ne tarda pas à découvrir toute une famille de telles molécules de signalisation, alors appelées « protéines G », car ces interrupteurs moléculaires fonctionnent par transformation du GDP (guanosine diphosphate) en GTP (guanosine triphosphate). Ils identifièrent par la suite environ mille gènes codant pour des récepteurs de la même forme que le récepteur bêta-adrénergique, tous couplés à des protéines G*.

Cette famille très diversifiée est la plus grande des récepteurs membranaires des mammifères (elle représenterait 3,4 % du génome). Elle compte notamment des récepteurs sensoriels : olfactifs, gustatifs, ou encore la rhodopsine (qui capte la lumière sur la rétine), mais aussi des récepteurs d'hormones comme la dopamine ou la sérotonine, ces molécules de signalisation à la base entre autres de nos émotions.

Poursuivant les recherches pendant trente ans, B. Kobilka a fini par observer en direct le fonctionnement d'un récepteur par cristallographie aux rayons X et à l'aide d'outils biomoléculaires, révélant le fonctionnement de cette famille de récepteurs couplés à des protéines G. L'équipe a finalement pu reconstruire précisément la structure tridimensionnelle du récepteur et comprendre comment il permet l'activation de la protéine G.

En poussant les recherches sur ces mécanismes, une voie s'ouvre au développement de nouveaux médicaments ciblés, pour un large éventail de pathologies.

M.-T. Dinh-Audouin

* La découverte des protéines G a valu à Alfred G. Gilman et Martin Rodbell le prix Nobel de physiologie ou médecine en 1994.
• Pour en savoir plus : www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012.

diplômés entre 2007 et 2011).

Quels sont les faits les plus marquants ? 80 % des diplômés ont signé leur premier contrat de travail moins de deux mois après l'obtention de leur diplôme (malgré la crise et la désindustrialisation) et le pourcentage des diplômés en activité professionnelle en relation avec leur formation est supérieur à 90 %. Plus de la moitié travaille dans des entreprises de plus de 500 salariés, la grande majorité en CDI, mais une tendance CDD vers CDI est en augmentation. Parmi les domaines d'activité, on observe une prédominance des activités de R & D (35 %). 35 % des diplômés travaillent dans l'industrie chimique ; plus de 10 % exercent dans les secteurs de l'énergie, de l'agroalimentaire, des sous-traitants de l'automobile ou l'aéronautique, des éco-industries... La représentation féminine atteint 57 %. Quant aux salaires de recrutement, ils sont repartis à la hausse

après une baisse de 6 % enregistrée pour les promotions 2009-2010.

• Source : FGL, 9/10/2012.

Stockholm Junior Water Prize 2013

Appel à candidatures

Vous avez engagé des travaux scientifiques dans le domaine de l'eau avec des jeunes de 15 à 20 ans ?

Accompagnez-les pour participer à ce concours international dont l'objectif est de valoriser les solutions innovantes pour améliorer la protection et la gestion des ressources en eau.

L'un des projets sélectionné par le jury participera à la finale à Stockholm en août prochain.

Date limite de dépôt des dossiers : 5 avril 2013.

• www.juniorwaterprize.fr

Industrie

Les lauréats des prix
Pierre Potier 2012

Le prix Pierre Potier, créé en 2006 par le Ministère de l'Économie, des Finances et de l'Industrie, en partenariat avec la Fédération Française pour les sciences de la Chimie (FFC) et l'Union des Industries Chimiques (UIC) récompense chaque année des produits ou procédés chimiques innovants qui contribuent au respect de l'homme et de son environnement et dont les applications sont au cœur de la vie quotidienne.

Le jury a attribué pour cette 7^e édition trois trophées et deux médailles :

- Trophées : **Arkema**, pour son Altuglas® ShieldUp, un **verre acrylique nanostructuré**, léger et ultra résistant, remplaçant le verre ; **Sanofi**, pour une **nouvelle voie de synthèse de l'artémisinine** pour le traitement du paludisme ; **Fermentalg**, pour son procédé d'exploitation industrielle des **microalgues** basé sur la **mixotrophie**.
- Médailles : **BASF**, pour son **procédé industriel en milieu aqueux** pour la **production de structures métallo-organiques** de type MOF ; **Wheatoleo**, pour la production d'**agrotensioactifs** innovants.

Le **Prix ChemStartup**, associé au prix Potier, a été attribué à **ECOAT**, pour ses nouveaux **polymères biosourcés** destinés à l'**industrie des peintures**.

Les prix ont été remis au Ministère de l'Industrie le 12 septembre dernier, en présence d'Yves Chauvin, prix Nobel de chimie 2005, Philippe Goebel, président de l'UIC, Maurice Leroy, président de la FFC, et d'Arnaud Montebourg, Ministre du Redressement productif.

Des informations complémentaires seront publiées dans le prochain numéro.

Environnement et sécurité

« La sécurité avec le sourire »



L'ECHA (European Chemicals Agency) bat campagne pour promouvoir de manière humoristique la sécurité au travail et les nouveaux pictogrammes présentant les risques et dangers des produits chimiques. À découvrir en ligne !

• www.napofilm.net

Les Européens et les polluants
atmosphériques

L'Agence européenne pour l'environnement (EEA) a présenté récemment son rapport annuel sur la qualité de l'air en Europe. Bien que la politique de l'Union européenne ait permis la réduction des émissions au cours des dix dernières années, le rapport 2012 tire les conclusions suivantes :

- Les **particules (PM)** constituent le risque sanitaire le plus grave. Près d'un tiers des citadins sont exposés à des concentrations excessives de particules en suspensions dans l'air, dont des polluants nocifs pour le système respiratoire.
- L'exposition à l'**ozone (O₃)**, à l'origine de problèmes respiratoires, reste très élevée dans les villes.
- Les émissions d'oxydes d'azote dépassent encore les plafonds d'émission fixés par la législation – le **dioxyde d'azote (NO₂)** est la cause majeure d'eutrophisation (croissance excessive des algues et des végétaux dans l'eau) et d'acidification.
- Une proportion considérable de la population urbaine de l'Union a été exposée à des concentrations de **benzo(a)pyrène (BaP)**, un agent cancérogène, dépassant la valeur cible de l'UE qui doit être respectée d'ici à 2013. L'augmentation de ces émissions est préoccupante.
- Des progrès notables ont été enregistrés pour le **dioxyde de soufre (SO₂)** et les émissions ont été réduites de manière significative au cours des dernières années (épuration des émissions, faible teneur en soufre des carburants).
- Les concentrations de **monoxyde de carbone**, de benzène et de **métaux lourds** (arsenic, cadmium, nickel, plomb) dans l'air extérieur sont généralement faibles.

La mauvaise qualité de l'air peut provoquer des maladies cardiovasculaires, des troubles respiratoires, le cancer du poumon et d'autres maladies.

Certains polluants peuvent entraîner une eutrophisation, une réduction des rendements agricoles et une diminution de la croissance des forêts et avoir des répercussions sur le climat. La Commission européenne est en train de préparer un réexamen de la législation de l'Union relative à la qualité de l'air et mettra un accent particulier sur les politiques de lutte contre la pollution atmosphérique en 2013. Janez Potočnik, membre de la Commission européenne chargé de l'environnement, a déclaré souhaiter que 2013 soit l'Année de l'air.

• Source : EEA, 24/09/2012.

Pour en savoir plus :
<http://ec.europa.eu/environment/air/quality/index.htm>, www.eea.europa.eu/themes/air

Chimie et vie quotidienne

Premier jeu concours
de cuisine note à note

Il est proposé de réaliser de un à trois aliments qui devront avoir au minimum pour chacun deux parties de consistances différentes dont une dure (craquant, croustillant...) et une molle ; chaque partie devra être structurée, c'est-à-dire faite de différentes phases de consistances différentes. L'emploi de tissus végétaux ou animaux est interdit. On utilisera des composés purs (eau, éthanol, saccharose, amylopectine...), des fractions obtenues par craquage de tissus végétaux ou animaux. La recette, les ingrédients et le mode opératoire de chaque aliment devront être décrits, et le résultat photographié. Critères d'évaluation : faisabilité, ingrédients, complexité gustative... Amis chimistes et cuisiniers : à vos casseroles et éprouvettes ! Les meilleures réalisations seront affichées sur plusieurs sites (Scienceetgastronomie.com, Forum Note à Note...) et feront l'objet d'expositions itinérantes.

• Concours gratuit ouvert à tous. **Inscriptions jusqu'au 15 janvier 2013.** Dernier envoi des dossiers : 30 mars 2013. Remise des prix : 26 avril 2013 à AgroParisTech Paris.
Contact : herve.this@paris.inra.fr
www.scienceetgastronomie.com

Michel Froment (1931-2012)



Michel Froment nous a quittés fin août. Avec cette disparition, la communauté des électrochimistes français perd un des pionniers dans le développement de l'électrochimie des couches minces, membre actif dans les instances de la recherche françaises et internationales pendant de très longues années (CNRS, Journées d'Électrochimie – JE –, SCF et Société internationale d'électrochimie – ISE).

Vous trouverez sur le site de la SCF* un texte « *In memoriam* » rédigé par Hubert Cachet, qui a travaillé plus de vingt ans avec lui.

*www.societechimiquedefrance.fr/IMG/pdf/memoriam_michel_froment.pdf

Découvrez le 7^e volume de la collection *L'Actualité Chimique-Livres* :

La chimie et la nature



Face aux impacts de l'activité humaine sur la nature (qualité, santé, ressources), comment la chimie agit-elle pour la protéger ?

Il s'agit de comprendre les milieux naturels : atmosphère, sols, eaux. Puis d'enrayer leurs dégradations : c'est la naissance de l'écologie ou de la chimie des écosystèmes (restauration des sols par les plantes, etc.), ou encore le traitement des émissions de CO₂. L'homme s'inspire aussi des mécanismes ingénieux de la nature pour inventer matériaux et médicaments. Il recycle les métaux et exploite la matière végétale comme alternative au pétrole. Il analyse la façon dont la nature capte et utilise l'énergie du Soleil d'où elle tire la vie, et se prépare à s'en inspirer, nous faisant rêver d'un monde nouveau. Les meilleurs acteurs présentent ici toutes ces démarches.

- Parution : octobre 2012. EDP Sciences, 300 p., 24 €. www.edition-sciences.com

Livres



Dendrimers

Towards catalytic, material and biomedical uses

A.-M. Caminade, C.-O. Turrin,
R. Laurent, A. Ouali, B. Delavaux-Nicot
538 p., 120 £
Wiley, 2011

Alors que les polymères, dont la paternité revient à Herrmann Staudinger à partir des années 1920, ont connu leur développement industriel pendant la Seconde Guerre mondiale, c'est aussi vers le milieu du XX^e siècle que Paul Flory introduisit les polymères branchés, ancêtres des dendrimères. Ceux-ci sont des macromolécules arborescentes précises en forme de chou-fleur ou d'arbuste (dendron), résultant de séries itératives de réactions dont les premiers exemples viennent de France et d'Allemagne à la fin des années 1970. Consécutivement, les premiers dendrimères furent synthétisés au début des années 1980 par les groupes américains de Newkome (arboroles), Tomalia (polyamidoamines, PAMAM) et Denkwalter (polylysine), et le domaine a connu son plein essor dans les années 1990. Les livres imposants d'auteurs de Vögtle (Bonn), Moorefield et Newkome (Akron, États-Unis) en 1996 et 2001 (2^e éd.) ont longtemps constitué la référence, avec le livre des éditeurs Fréchet et Tomalia en 2001. Tout récemment, une série d'ouvrages est venu mettre à jour un domaine qui s'est beaucoup étendu. En 2010, deux revues à *Chemical Reviews* venues d'Akron et de Bordeaux et contenant environ 2 000 références chacune ont

montré les progrès respectivement en synthèse et dans le domaine appliqué. Au tournant de la décennie, trois livres sont récemment sortis. Chez Wiley, Vögtle, Richardt et Werner (Bonn) ont publié un livre d'auteurs, *Dendrimer chemistry: concepts, syntheses, properties, applications*, et Campagna, Ceroni et Puntoriero (Bologne), un livre de rédacteurs, *Designing dendrimers*, rassemblant une large communauté de dendriméristes.

Ici, ce livre toulousain, issu du Laboratoire de Chimie de Coordination, est dirigé de main de maître par Anne-Marie Caminade, grande spécialiste des dendrimères depuis près de vingt ans et auteur ou co-auteur de chacun des vingt-et-un chapitres. Il a le mérite d'être bien complet, très détaillé et équilibré comme il se doit pour un livre d'auteurs. Outre la préface, la conclusion et l'index, il comprend quatre parties : généralités, catalyse, matériaux et biologie. La première, rédigée par A.-M. Caminade, comprend cinq chapitres dédiés aux synthèses, caractérisations et propriétés physico-chimiques (luminescence, stimulation, cristaux liquides) et un sixième dont C.-O. Turin est co-auteur sur les nanoparticules. La partie catalyse contient six chapitres (catalyseurs homogènes à l'intérieur ou en périphérie, énantiosélectifs et dans les milieux particuliers ou hétérogènes), rédigés avec A. Ouali ou R. Laurent. La partie matériaux est composée de quatre chapitres rédigés par A.-M. Caminade seule (capteurs) ou avec B. Delavaux-Nicot (auto-assemblages) ou R. Laurent (matériaux). Enfin, la dernière partie consacrée aux applications biomédicales comprend cinq chapitres rédigés avec C.-O. Turin (imagerie, transfection, médicaments, encapsulation, multivalence).

L'ouvrage est de lecture facile, bien illustré, et les chapitres sont accompagnés de nombreuses références. Les dendrimères, outre leurs qualités esthétiques, présentent de

nombreuses applications potentielles dont on peut espérer que certaines verront le jour malgré leurs difficultés de synthèse, purification et reproductibilité et le coût lié à leur caractère sophistiqué. Cet excellent livre est recommandable à tous les chimistes, biochimistes, physico-chimistes et spécialistes de catalyse, polymères et matériaux.

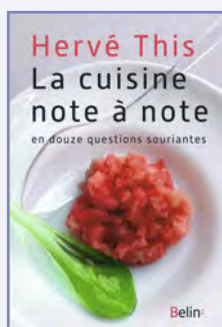
Didier Astruc

Ce que disent les fluides (2^e éd.)

E. Guyon, J.-P. Hulin, L. Petit
174 p., 25 €
Belin, Pour la science, 2011

C'est la deuxième édition d'un ouvrage qui a donc rencontré le succès auprès de son public. La formule était en effet originale et s'appuyait sur la faculté première du scientifique de s'émerveiller, de s'étonner, puis de chercher une explication.

Livre d'images, comme l'écrivait Pierre-Gilles de Gennes dans la préface de la première édition reprise ici. Pour deux raisons au moins : parce que ces images sont nombreuses et belles, et surtout parce qu'elles sont la source du message. Le principe est simple : une image, une photo le plus souvent, est choisie parce qu'elle donne à voir un phénomène, qu'elle en permet un commentaire ; ce premier commentaire est suivi d'une partie d'explication, d'approfondissement (le phénomène en détail) qui explicite les lois physiques sous-tendant le phénomène présenté. Le principe est simple, mais la réalisation délicate. L'équilibre entre la perception première du phénomène, sa description et l'expression des lois qui en rendent compte est difficile à atteindre, d'autant



La cuisine note à note en douze questions souriantes

H. This
208 p., 19,90 €
Belin, 2012

Pourquoi ne pas constituer des aliments à partir de composés ? C'est cela la « cuisine note à note » : la réalisation de mets inédits, aux goûts nouveaux, à partir de composés purs, mélangés habilement. Après la cuisine moléculaire : une nouvelle révolution culinaire ?

• Pour en savoir plus : This H., De quelles connaissances manquons-nous pour la « cuisine note à note », *L'Act. Chim.*, 2011, 350, p. 5.

plus que le tout est contenu, chaque fois, dans deux pages en regard. Jusqu'où aller pour que le lecteur y trouve son compte ?

Cette seconde édition est un peu augmentée (sept nouvelles entrées). Élargissement de l'offre d'interrogation et de découverte par de nouveaux exemples. Il est probable que le spécialiste de la mécanique des fluides n'y apprendra rien de nouveau dans son domaine scientifique, mais peut-être trouvera-t-il quelques amusements à découvrir l'application de ses connaissances dans l'explication de phénomènes somme toute familiers.

Le non-spécialiste y découvrira un domaine nouveau et si les explications le laissent parfois sur sa faim, peut-être en tirera-t-il l'envie d'y regarder de plus près. Le néophyte connaîtra l'émotion de découvrir que ce qu'on avait quelquefois sous les yeux depuis longtemps sans se poser plus de questions est porteur de science, et que la curiosité est certainement le premier acte scientifique. Il est bien possible que des vocations scientifiques naissent ainsi. On ne dira jamais trop le rôle déclencheur de l'approche scientifique que peuvent avoir l'étonnement, le sentiment du beau devant un objet, un phénomène ou même une construction théorique.

Le lecteur pourra donc, dans l'ordre ou le désordre, observer et comprendre des phénomènes où le comportement des fluides est principalement gouverné par la viscosité, l'inertie, la capillarité, les tourbillons, la turbulence, les ondes, les instabilités ou même les écoulements granulaires. De la chromatographie si chère au chimiste, à la chute des feuilles mortes, des perles d'eau sur une toile d'araignée aux cyclones, des tourbillons de marée aux ondes de choc, des flammes de prémélange à la genèse des dunes, il y a de belles promenades intellectuelles à faire. Cet itinéraire, très personnel, n'en est qu'un parmi tant d'autres possibles. Il est heureux que ce petit livre ait déjà trouvé un public. Cette réédition devrait l'élargir.

Pierre Vermeulin



Chemistry for sustainable development

M.G. Bhowon, S. Jhaumeer-Laulloo,
H.L.K. Wah, P. Ramasami (eds)
486 p., 147,65 €
Springer, 2012

Ce livre est en fait un ouvrage de proceedings qui rassemble 31 présentations de l'ICPAC 2010 (International conference on pure and applied chemistry), congrès qui s'est tenu en juillet 2010 à Balacalava (Île Maurice) et a rassemblé 160 participants provenant de 30 pays. Ces présentations se répartissent géographiquement ainsi : Inde (11), Île Maurice (4), Pakistan (3), Russie (3), Irak (2), Afrique du Sud (2), Royaume-Uni (2), et une pour chacun des autres pays (Bangladesh, Singapour, Thaïlande, République tchèque). Ces publications représentent seulement une partie des 100 communications orales et des 85 posters du congrès.

À la lecture de ces présentations, retenues après avis de rapporteurs, on est inquiet quant aux 69 qui ne l'ont pas

été ! En effet, cet ouvrage est la compilation, dans le désordre, de travaux expérimentaux ou théoriques qui, pour la plupart, n'ont rien à voir avec la chimie pour le développement durable ! On trouve ainsi, à titre d'exemples non limitatifs : des biocapteurs pour la détection de maladies diverses, des anticancéreux à base de sels d'étain, des études théoriques sur les réactions multistades ou l'hydroamination des alcènes substitués, ainsi qu'un long mémoire sur l'enseignement de la classification périodique...

À cet étalage de résultats très généraux, il faut ajouter la confusion avec le thème « chimie et environnement » qui, au sens strict, n'appartient pas à celui de la chimie durable. Parmi les articles traitant de l'environnement, on remarque des études : sur les eaux côtières de l'île Maurice, la photoionisation des intermédiaires réactifs dans l'atmosphère, l'adsorption de traces de métaux lourds, l'accumulation des métaux dans les plantes, le contrôle de la pollution de l'eau dans les industries textiles... Seuls quelques rares articles peuvent se prévaloir d'un rattachement à la chimie pour le développement durable, par exemple : réactions en milieu micellaire avec des tensioactifs issus de modifications d'acides aminés, en milieu sec sans solvant (mais l'auteur conclut qu'il est préférable d'utiliser la méthode classique), la réduction photocatalytique du CO_2 , l'utilisation d'huiles essentielles...

Parmi ces articles, nombreux sont ceux qui sont intéressants et ce n'est pas la qualité de leur contenu qui est en jeu, mais l'inadéquation des travaux présentés avec le titre du livre. Avec quelques efforts, certains auraient pu s'intégrer un peu mieux, mais même là, on ne sent aucune volonté de la part des auteurs qui se contentent de présenter leurs résultats sans justifier leur rattachement au thème du congrès !

Bulletin de l'Union des professeurs de physique et de chimie (« Le Bup »)



La rédaction de L'Actualité Chimique a sélectionné pour vous quelques articles.

N° 946 (juillet-août-septembre 2012)

- L'UdPPC une association : actions et perspectives, par L. Izicki.
- Les XXVIII^e Olympiades nationales de la chimie, par J. Calafell, M. Schwob.



N° 947 (octobre 2012)

- Faits et valeurs : la place de la connaissance scientifique dans le débat public, par J. Treiner.
- RMN macroscopique, par J. Barthes, P. Langlois.
- Étude cinétique d'une réaction photochrome, par J. Piard.

Sommaires complets, résumés des articles et modalités d'achat sur www.udppc.asso.fr

Cet ouvrage est le témoignage de ce qu'il ne faut pas faire si nous voulons rester crédibles quant à nos projets en matière de chimie propre : la chimie pour le développement durable est un objectif pour les chimistes, ce ne doit pas être un alibi !

Isabelle Rico-Lattes



Isotopie biologique **Introduction aux effets isotopiques** **et à leurs applications en biologie**

G. Tcherkez

237 p., 65 €

Tec & Doc, Lavoisier, 2010

C'est au tout début du XIX^e siècle que le concept des « isotopes » est né : Frederick Soddy utilise ce mot pour la première fois en 1913. Malgré cela, beaucoup de temps s'est écoulé avant que les isotopes deviennent un outil en recherche biologique et chimique, ceci étant principalement dû aux difficultés de quantifier précisément les rapports isotopiques. Depuis l'invention puis les développements en instrumentation de spectrométrie de masse, les isotopes lourds stables ont joué un rôle de plus en plus important dans de nombreux domaines scientifiques, y compris la biologie, la chimie, la médecine, la géologie et l'hydrologie. Historiquement, les isotopes stables servaient comme traceurs, simplement pour suivre la transformation de A en B, C, etc., puis plus récemment pour mesurer la vitesse de telles transformations. Cette exploitation est possible grâce aux propriétés physico-chimiques des isotopes lourds, qui leur confèrent un comportement légèrement différent des isotopes légers du même élément. Ainsi des molécules contenant zéro, un ou plusieurs isotopes lourds vont diffuser à des vitesses non identiques, interagir différemment avec des surfaces et montrer une réactivité propre. Pour simplifier, ces différents comportements sont connus comme « les effets isotopiques ».

Dans la perspective d'expliquer les propriétés des isotopes stables, leur comportement et comment les exploiter pour les études biologiques, l'auteur, un jeune professeur de l'Université d'Orsay, a rédigé ce livre en huit chapitres permettant de décrire : les notions d'isotope, leur formalisme, les façons de déterminer les rapports isotopiques,

et comment leurs propriétés sont exploitées pour l'étude des mécanismes enzymatiques, de la physiologie végétale, du métabolisme, de l'environnement, et comme exemple d'application concrète, l'utilisation par la répression des fraudes du fractionnement isotopique.

Au cours de cet ouvrage, le lecteur découvre un texte très clair et pédagogique, à la fois utile pour un étudiant de second cycle ou un scientifique qui souhaite approfondir sa connaissance du sujet. L'auteur est à féliciter pour la clarté de la présentation d'un nombre des notions mathématiques essentielles à la compréhension des origines physiques et chimiques de fractionnements isotopiques associés à la réactivité et au métabolisme. Par contre, il aurait peut-être été souhaitable de présenter en premier lieu le formalisme théorique de Bigeleisen pour le calcul des effets isotopiques, puis en second l'exploitation de l'équation de Rayleigh comme méthode facilement accessible.

En ce qui concerne les applications et les mesures des rapports isotopiques, les diverses approches sont illustrées par plusieurs données expérimentales, en ayant à la fois une perspective générale et le soin du détail. Le métabolisme des plantes en est un exemple ; le rôle de quelques enzymes et l'impact sur les teneurs isotopiques sont intégrés de façon compréhensible, facilitant au lecteur l'acquisition d'une vision globale du fractionnement isotopique du système d'étude dans son entier. Cependant, l'absence des citations des travaux fondateurs pourrait manquer aux lecteurs isotopistes confirmés.

Un seul regret est que l'auteur n'a pas inclus l'utilisation de la RMN isotopique, méthode appropriée pour déterminer la variabilité de teneur isotopique en ¹³C intramoléculaire en abondance naturelle au ‰ et qui, depuis ces dernières années, s'est avérée performante pour l'analyse des fractionnements isotopiques dans des biomolécules. Attendons la seconde édition !

Dans l'ensemble, cet ouvrage possède toutes les qualités pour devenir une source de référence essentielle aux chercheurs dans tous domaines de la biologie : ceux qui travaillent avec les isotopes, pour rafraîchir leur connaissance ; ceux qui s'intéressent à l'exploitation des isotopes, pour compléter leur formation ; et ceux qui n'ont jamais pensé utiliser les isotopes, pour les convaincre que l'exploitation des isotopes stables pourra introduire des nouveautés dans leur recherche.

Richard Robins et Gérard Remaud



Le génie des procédés et l'entreprise **Projets industriels et management** **du changement**

J.-P. Dal Pont

569 p., 190 €

Hermès, Lavoisier, 2011

Cet ouvrage que Jean-Pierre Dal Pont a coordonné et auquel il a largement contribué résulte de la mise en commun de l'expérience de professionnels du monde académique et du monde industriel. Il a pour ambition de décrire et d'explicitier l'industrialisation des procédés dans les industries éponymes dont le but est la transformation de la matière et de l'énergie.

Le chimiste y trouvera les techniques expérimentales pour définir les « bases de l'industrialisation » nécessaires au bureau d'études pour initier le travail d'ingénierie, dont les étapes qui vont du développement de procédé à la construction et au démarrage de l'atelier de fabrication sont largement décrites. Les techniques aujourd'hui incontournables d'analyse du cycle de vie et de l'écoconception, d'analyse de la valeur et fonctionnelle, l'innovation et l'intensification des procédés constituent des chapitres dédiés.

Les méthodes de conception et d'évaluation de procédés et systèmes industriels durables font l'objet d'un développement particulier qui complète l'initiation aux techniques classiques de mise en place du système de management de la qualité et de la sécurité. Les techniques d'analyse systémique, de management de projet, de l'analyse Pareto, les techniques de progrès, continu, de management du changement, d'initiation à la détermination des coûts de fabrication et d'analyse de la rentabilité complètent la panoplie des outils indispensables aux techniciens du domaine.

Les grandes étapes du développement du génie chimique et du génie des procédés, leur rôle fondamental dans l'évolution des pays industrialisés font l'objet d'un chapitre particulier où les opérations unitaires sont décrites sommairement avec un accent particulier sur ce qui concerne le monde du vivant. L'analyse de l'entreprise industrielle moderne, qui a pris la relève de la manufacture du XIX^e siècle, de ses

mécanismes, de son organisation, place les projets au cœur de son mode de fonctionnement entrepreneurial, eux-mêmes résultant de l'analyse stratégique.

Cet ouvrage arrive à un moment où les défis liés à l'énergie, à l'eau, à la raréfaction des matières premières, à la mondialisation et à l'inégalité entre pays pauvres et pays riches, pour ne citer que ceux-là, suscitent interrogations et craintes, que les problèmes financiers actuels amplifient au niveau mondial. Les auteurs estiment à juste titre que la chimie et les techniques de génie des procédés, revues à l'aune du développement durable, peuvent contribuer à repenser une nouvelle *industrialisation* au service de l'Homme.

L'ouvrage se veut à la fois une source d'information, de formation et de réflexion. La pertinence et la variété des sujets traités seront utiles à l'étudiant et au professionnel qui a à développer des procédés, à construire des outils industriels, à les faire fonctionner et à les améliorer dans l'esprit d'un progrès continu. Il facilitera le dialogue entre tous les acteurs des projets, qu'ils soient techniciens, financiers, les personnes en charge d'activités commerciales, de marketing, d'activités « corporate » et les représentants sociaux. Cet ouvrage est sans doute un de ceux que l'honnête homme curieux de technique et d'organisation se doit d'avoir lu.

François Rocquet



Les énergies
Comprendre les enjeux
P. Mathis
252 p., 30 €
Éditions Quae, 2011

Paul Mathis, bio-énergéticien, spécialiste de photosynthèse, a écrit un ouvrage clair et agréable à lire sur l'énergie. Dès la préface, Jean Jouzel pose immédiatement le problème de l'énergie dans le cadre des émissions de CO₂ et du changement climatique. Dans une progression thématique habile, le lecteur est d'abord sensibilisé à l'indispensable énergie, puis à une fresque rapide de l'évolution de la planète et de l'homme depuis des centaines de

millénaires. Après un rappel des définitions de l'énergie et des principes de la thermodynamique, on trouve un aperçu global des consommations énergétiques mondiales et de ses probables évolutions.

Une deuxième partie passe en revue les différents vecteurs d'énergie, d'abord les combustibles fossiles et le CO₂ associé à leur combustion qui pose un problème planétaire. Comment faire des économies d'énergie dans les différents secteurs – industriels, transports, tertiaire, domestique ? On cite les efforts sur l'efficacité énergétique à faire sans retourner au Moyen Âge. La place de l'électricité est très bien cernée, en rappelant que des milliards d'individus n'y ont pas accès. L'énergie nucléaire avec ses filières, ses avantages et ses problèmes est bien analysée. Ce sont ensuite les énergies renouvelables – le bois, l'éolien, le solaire – qui sont décrites, avec leurs caractéristiques et des chiffres précis.

Dans une troisième partie, l'auteur revient plus précisément sur les moyens de production : d'abord l'électricité, en passant en revue les centrales thermiques à base de combustibles fossiles, les centrales électro-nucléaires, les barrages hydroélectriques, l'énergie éolienne, le solaire photovoltaïque, le solaire thermodynamique, la cogénération et les réseaux de transport. Les coûts différents de production, leur évolution, l'organisation nationale européenne et trans-européenne de la distribution sont des sources concrètes pour le lecteur capable de lever les informations simplificatrices des médias. Le chapitre suivant parle de la production et de l'utilisation de la chaleur à partir des sources, des divers types de chauffage avec leur rendement ; les besoins industriels et domestiques sont décrits avec les objectifs 2020. Sont ensuite abordés les transports et leurs besoins croissants en énergie, avec une amorce de solutions pour mettre fin à une situation non durable. Suit un chapitre sur la biomasse où sont rappelées sa formation, la situation forestière et les perspectives nationales et mondiales en balance avec l'agriculture, et les besoins alimentaires sont discutés.

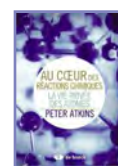
Le livre se termine par des espoirs de percées technologiques futures : l'hydrogène, la fusion nucléaire, les biocarburants de troisième génération, la photosynthèse artificielle, et les choix politiques énergétiques, européens et nationaux. Les conclusions, bien étayées, insistent sur l'urgence des

mesures à prendre en faisant confiance à la créativité et aux initiatives locales, nationales et mondiales pour résoudre les problèmes climatiques qui sont à nos portes.

Dans un style clair, avec des chiffres récents, très bien documenté, voici un livre qui peut être accessible à un très large public désireux d'aborder les sujets de l'énergie parfois polémiques en se basant sur des informations sûres et d'actualité.

Jean-Claude Bernier

À signaler



Au cœur des réactions chimiques

La vie privée des atomes
P. Atkins
(trad. P. Depovere)
190 p., 25 €
De Boeck, 2012



Café, crème, savon et Cie

La petite chimie du matin
M. Chiron-Charrier
160 p., 12 €
EDP Sciences, 2012



Tout est chimie !

(n^{elle} éd.)
Coll. Les minipommes
C. Rabbe, C. Jousot-Dubien
64 p., 8,90 €
Éditions Le Pommier, 2012

Ethics in science

Ethical misconduct in scientific research

J. D'Angelo
130 p., 19,99 £
CRC Press, avril 2012

Specific intermolecular interactions of organic compounds

A.K. Baev
452 p., 147,65 €
Springer, 2012

Nous vous invitons à lire sur www.lactualitechimique.org (fichier pdf en téléchargement libre via le sommaire en ligne de ce numéro) deux autres analyses :

La métallurgie : science et ingénierie

(A. Pineau, Y. Quéré), par J.-C. Bernier, et **Characterization of impurities and degradants using mass spectrometry** (B.N. Pramanik, M.S. Lee, G. Chen), par P. Arpino.

1-3 novembre 2012

5th Congress of the European Society for the History of Science (ESHS)

Athènes (Grèce)

- <http://5eshs.hpdst.gr>

8 novembre 2012



Croissance et innovation par une chimie durable

Poitiers

Journée de la division Chimie industrielle (et remise des prix 2012).

- www.societechimiquedefrance.fr/manifestation/croissance-et-innovation-par-une-chimie-durable.html

13-14 novembre 2012

Particules et santé Atelier scientifique

Paris

- www2.ademe.fr

14 novembre 2012



Autour du cholestérol

Paris

Après-midi commune club Histoire de la chimie/Société d'histoire de la pharmacie.

- danielle.fauque@u-psud.fr

14 novembre 2012



Chimie et enjeux énergétiques

Paris

Dans le cadre des colloques « Chimie et... » à la Maison de la Chimie.

- <http://actions.maisondelachimie.com/index-p-colloque-i-25.html>

15 novembre 2012

Le solaire photovoltaïque

1^{ère} Journée recherche de l'Ademe

Valbonne

- www.ademe.fr

15-21 novembre 2012

25^e Entretiens Jacques Cartier

Lyon, Grenoble, Saint-Étienne et Lausanne

Au programme : énergie, santé, transports, nouvelles technologies, culture...

- www.centrejacquescartier.com

22-23 novembre



Journées d'automne du GFP2P

(Groupe français de photochimie, photophysique et photosciences)

Paris

- www.societechimiquedefrance.fr/manifestation/journees-d-automne-du-groupe-francais-de-photochimie-photophysique-et-photosciences-gfp2p.html

22-24 novembre 2012

DDNPTM 2012

3rd International biennial conference on new developments in drug discovery from natural products and traditional medicines

SAS Nagar (Punjab, Inde)

- www.ddnptm-niper.com

22-24 novembre 2012

Frontier research in chemistry ERC Grantees conference

Strasbourg

Au programme : deux conférenciers prix Nobel (K.B. Sharpless et J.-M. Lehn) et 24 autres conférenciers invités.

- <http://erc-ics.unistra.fr>

26-28 novembre 2012



Les défis scientifiques du recyclage

Contribution de la chimie

Metz

- www.ffc-asso.fr/colloques/recyclage

28 novembre 2012



Piles à combustible

Paris

- www.ffc-asso.fr/colloques/piles-a-combustible

28 novembre-1^{er} décembre 2012

Le photochromisme

7^e Colloque du GDRI Phenics

Nantes

- <http://gdri.univ-nantes.fr>

30 novembre 2012



Journée Grand Sud-Ouest

Bordeaux

- www.enscpb.fr/nsysa/gsobordeaux2012

30 novembre 2012

MedChem 2012

From rapid dissociation to irreversible inhibition

Liège (Belgique)

- www.ldorganisation.com

3-7 décembre 2012



ElecMol'12

6th International meeting on molecular electronics

Grenoble

- <http://elecmod10.grenoble.cnrs.fr>

5-6 décembre 2012

Chimiométrie 2012

Villeneuve d'Ascq

- <http://chimimetrie.sciencesconf.org>

5-6 décembre 2012



Journées d'automne de la division Chimie organique

Montpellier

- www.societechimiquedefrance.fr/manifestation/journees-d-automne-de-la-division-chimie-organique-dco.html

12-14 décembre 2012

JNPV 2012

Journées nationales du photovoltaïque

Chantilly

- www.jnpv.fr

14 décembre 2012



Journée en hommage au Pr Jean Tirouflet

Dijon

- www.icmub.fr

16-17 janvier 2013

Protein-protein interactions Emerging science and therapeutic potential

Londres (Royaume-Uni)

- www.ppi-net.org

29-30 janvier 2013

C2I 2013

6^e Colloque interdisciplinaire en instrumentation

Villeurbanne

- www.c2i2013-lyon.fr

30 janvier-2 février 2013

4th ICYC 2013

International conference for young chemists

Georgetown (Malaisie)

- <http://web.usm.my/icyc>

Vous trouverez de nombreuses autres manifestations sur le site de la SCF : www.societechimiquedefrance.fr, rubrique Manifestations.

Elections au Conseil d'administration

Douze postes statutaires sont à pourvoir pour le prochain Conseil d'administration de la Société Chimique de France (2012-2015). L'appel à candidatures émis en juin dernier a conduit à vingt candidatures, ce dont se félicite le Bureau national qui les a validées le 19 septembre. **C'est à vous d'élire ces membres au Conseil d'administration : ils sont vos représentants !**

Le matériel de vote doit vous parvenir dans le courant de la semaine 42. Votez soit en retournant votre bulletin dès que possible et avant le 5 novembre 2012, 12 h, soit en venant au siège de la SCF (250 rue Saint-Jacques, Paris 5^e) le 6 novembre entre 9 h et 10 h 30.

Les professions de foi et curriculum vitae sont consultables à la page « Mon compte » de tout adhérent après avoir accédé à la page « Adhérents ».



Adhésion et renouvellement d'adhésion

La campagne 2013 débutera aux alentours du 15 octobre avec l'envoi des bulletins d'adhésion aux entités opérationnelles et des bulletins de renouvellement par courrier. Le site Internet de la SCF* permettra à la même date et en ligne adhésion comme renouvellement, en plus du téléchargement des différents bulletins pour les membres (professionnels et doctorants) et les membres associés (étudiants en licence, master, élèves-ingénieurs d'une part, demandeurs d'emploi d'autre part).

Pour les membres, la possibilité est offerte de s'inscrire à un tarif préférentiel à l'IUPAC donnant droit à *Chemistry International* et des réductions substantielles aux manifestations scientifiques patronnées par l'IUPAC.

Pour les étudiants, et à titre expérimental, il est proposé une adhésion courant sur l'année universitaire (1^{er} septembre 2012-31 août 2013) et non sur l'année civile.

Enfin, rappelons que les barèmes des cotisations sont inchangés depuis 2009.

*www.societechimiquedefrance.fr/spip.php?page=adhesion_scf

Assises nationales de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (AESR)

Les Assises nationales de l'ESR sont en phase de plein développement. Elles reposent sur la participation de chacun, personnes et organisations, acteurs, bénéficiaires et partenaires. Toutes les contributions, individuelles ou collectives, sont les bienvenues et peuvent être déposées en ligne⁽¹⁾.

De nombreux rapports sont déjà sur le site dédié⁽²⁾. On peut citer celui de l'Académie des sciences⁽³⁾ et signaler également l'entretien de Vincent Berger, rapporteur général du Comité de pilotage, accordé à *CNRS Hebdo*⁽⁴⁾. La SCF vient de rédiger sa contribution qui est disponible sur la page « Mon compte » de ses adhérents.

(1) www.assises-esr.fr/contribuez#contribuer

(2) www.assises-esr.fr

(3) www.academie-sciences.fr/activite/rapport/rads0912.pdf

(4) <http://intranet.cnrs.fr/intranet/actus/vincent-berger20120928.html>

Le Bureau de la SCF

Prix des divisions 2012

Chimie industrielle

• Philippe Serp



Professeur à l'Institut National Polytechnique de Toulouse, Philippe Serp a mis au point un **procédé de production de nanotubes de carbone** (NTC) (collaboration LCC-ENSIA-

CET et Arkema). Ces travaux ont conduit à la préparation originale de catalyseurs sélectifs à base de Fe/alumine permettant, à partir de l'éthylène comme matière première, de préparer des NTC par dépôt chimique en phase vapeur dans un réacteur à lit fluidisé. L'invention, couverte à ce jour par sept brevets, a donné lieu à plusieurs thèses et stages post-doctoraux. La collaboration avec Arkema a conduit à la construction d'une unité de production de 400 t/an de NTC sur son site de Mont. Les applications concernent l'électronique, les énergies renouvelables (éolien, photovoltaïque) et le stockage d'énergie (batteries, super-capacités).

P. Serp collabore également avec la plateforme CANOE (Consortium aquitain en nanomatériaux et électronique organique), pour le développement de matériaux nanostructurés. Des travaux de recherche sont actuellement poursuivis pour permettre un meilleur contrôle de la morphologie des NTC par la mise au point de nouveaux catalyseurs.

• Christine Deneuilliers et Antoine Piccirilli



Christine Deneuilliers, directrice technique du groupe Colas, et Antoine Piccirilli, directeur scientifique de Valagro Carbone renouvelable, ont mis au point pour le domaine routier des **bio-fluxants respectueux de l'environnement**.

Afin de maîtriser leur viscosité, les bitumes sont mélangés à des fluxants. Ces fluxants, dont le marché français est de 35 000 t, sont volatils lorsqu'ils sont issus de la pétrochimie, ce qui

pose des problèmes d'émission de COV et de gaz à effet de serre. Valagro, spécialiste de l'oléochimie verte, a développé un procédé de production des esters oxydés qui ont été testés industriellement avec succès comme bio-fluxants par la société Colas. Ce travail (soutenu par l'Ademe) a conduit à deux brevets couvrant la synthèse et l'application de ces bio-fluxants, et à la génération d'une nouvelle gamme commerciale.

La mise en œuvre sur domaine routier a mis en évidence l'absence de dégagement de COV (pour des propriétés applicatives équivalentes aux fluxants d'origine fossile), une réduction de 30 % de la consommation de ces additifs du fait de leur meilleure propriété en tant que solvant, une réduction de 40 % de l'énergie nécessaire, ainsi qu'une baisse de 20 à 40 °C de la température de mise en œuvre sur les routes. Ces produits peuvent aussi être utilisés pour fabriquer des enrobés stockables à froid.

Les prix seront remis aux lauréats le 8 novembre prochain à Poitiers, lors de la manifestation thématique « Croissance et innovation par une chimie durable ».

Chimie organique

Prix de la division

• Jacques Maddaluno



Diplômé de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Paris (1983) après ses études à Nancy, Jacques Maddaluno obtient son doctorat à l'issue de travaux sur la réaction d'aza-Michael hyperbare effectués à l'ESPCI sous la direction de Jean d'Angelo (Paris 6, 1986). Il rejoint pour un bref séjour le Laboratoire de chimie organique théorique où il travaille sous la direction d'Alain Sevin sur une étude *ab initio* de la réaction d'Hajos-Parrish. Une bourse de la Fondation de France lui permet de rejoindre le Nancy Pritzker Laboratory, dirigé par Jack D. Barchas, au sein de l'École de Médecine de l'Université Stanford (CA, E.-U.). Il y consacre deux années à la synthèse de L-DOPA marquée à ^{15}O afin d'étudier, avec Kym F. Faull et Emmanuel Mignot, l'activité cérébrale du chien narcoleptique par TEP (tomographie par émission de positrons). Chargé de recherche au CNRS fin 1988 dans le laboratoire de Pierre Duhamel (Université de Rouen), il s'intéresse à la chimie des amides chiraux et développe un accès à des diènes fonctionnels possédant une réactivité particulière en cycloaddition. En 1991, il gagne le laboratoire d'Henri-Philippe Husson (Paris 5) où il se consacre à la synthèse de l'huperzine. De retour à Rouen, il s'intéresse

Des facteurs d'impact toujours en hausse !

La plupart des journaux de ChemPubSoc Europe, le consortium de publications des sociétés de chimie européennes, voient en 2011 leur « IF » augmenter de façon parfois très significative (les valeurs entre parenthèses correspondent à 2010) : *ChemSusChem* : **6,827** (6,325) *Chem. Eur. J.* : **5,925** (5,476) *ChemCatChem* : **5,207** (3,345) *ChemBioChem* : **3,944** (3,945) *ChemPhysChem* : **3,412** (3,34) *Eur. J. Org. Chem* : **3,329** (3,206) *ChemMedChem* : **3,151** (3,306) *Eur. J. Inorg. Chem* : **3,049** (2,91) Signalons aussi que le journal de la GDCh qui lui est associé, *Angew. Chem. Int. Ed.*, voit son facteur d'impact passer de 12,73 à **13,455**.

Ces journaux sont les vôtres : ils attendent vos publications !

Gabriel Loget

Médaille d'argent du « European Young Chemist Award 2012 »



Doctorant à l'Institut des sciences moléculaires (groupe « Nano-systèmes analytiques ») à l'Université de Bordeaux – il fut aussi président du Club de jeunes de la SCF Aquitaine en 2011 –, Gabriel Loget a reçu cette récompense lors du congrès EuCheMS (Prague, 26-30 août 2012). Sa présentation était intitulée : « *Translation, rotation and levitation of micro- and nano-objects using bipolar electrochemistry* ».

Les prix décernés lors de cet événement ont pour but de récompenser et de promouvoir les recherches effectuées par de jeunes chimistes européens.

aux agrégats mixtes chiraux d'organolithiens à travers la triple approche synthèse/spectroscopie/théorie, en collaboration étroite avec l'équipe de RMN de Rouen (Hassan Oulyadi) et le Laboratoire de chimie théorique de Paris 6 (Claude Giessner puis Hélène Gérard).

Promu directeur de recherche en 2000, il poursuit des travaux sur les organolithiens en synthèse asymétrique et aborde le problème de la carbométallation des alcynes. Il anime actuellement une équipe de cinq permanents au sein de l'UMR CNRS 6014 « COBRA » (Université de Rouen). Président de la section 12 du Comité National (2008-11), il occupe depuis juin 2011 un poste de directeur adjoint scientifique à l'Institut de chimie du CNRS.

Prix Acros

• Fabien Gagosz



Après son diplôme d'ingénieur de l'École de Chimie de Strasbourg (1997), Fabien Gagosz a effectué sa thèse à l'École polytechnique sous la direction de Samir Zard (1998-2002), suivie d'un post-doctorat d'un an dans l'équipe de Willie B. Motherwell à Londres. Fin 2003, il est nommé chargé de recherche au CNRS dans le Laboratoire de synthèse organique de l'École polytechnique et obtient son habilitation à diriger des recherches en 2010.

Ses travaux de recherche concernent principalement la catalyse homogène, avec un intérêt tout particulier pour la catalyse à l'or et le développement de nouvelles méthodes permettant la fonctionnalisation de systèmes π carbonés*. Il a reçu le prix de thèse Dina Surdin de la SCF en 2003, la Médaille de bronze du CNRS en 2008 et un Thieme Chemistry Journal Award en 2010.

* Voir son article « La catalyse à l'or : un outil synthétique en devenir », *L'Act. Chim.*, 2010, 347, p. 12.

Prix enseignant-chercheur

• Vincent Gandon



Après sa thèse dans le laboratoire de Jan Szymoniak à Reims où il s'est intéressé au développement de nouvelles méthodes de synthèse à partir

des complexes du zirconium, Vincent Gandon rejoint en 2002 le groupe de Guy Bertrand à Riverside (E.-U.) pour un stage postdoctoral consacré à la préparation de biradicaux centrés sur le phosphore et le bore. Recruté en 2003 dans le laboratoire de Max Malacria (Paris 6) en tant que maître de conférences, il a développé avec Corinne Aubert des cycloadditions [2+2+2] catalysées par des complexes du cobalt et impliquant des alcynes borés et des ynamides. Il a également travaillé sur des sujets développés par Louis Fensterbank portant sur les cycloisomérisations catalysées à l'or et au platine.

Habilité à diriger des recherches en 2008, il obtient un poste de professeur à Orsay en 2009, accompagné d'une chaire d'excellence de trois ans et enseigne la chimie organique, la catalyse et la synthèse asymétrique du L1 au M2. Il dirige le groupe « polycyclisations catalytiques » au sein du Laboratoire de catalyse moléculaire (ICMMO) et se consacre au développement de nouvelles réactions par catalyse au gallium, à l'or et aux lanthanides. Une grande part de son activité est également dédiée à la modélisation moléculaire qu'il pratique à Orsay et à l'ICSN en tant que chercheur invité dans l'équipe de Bogdan Iorga. Depuis 2012, Vincent Gandon est membre junior de l'Institut universitaire de France.

Prix de thèse

• Marie-Hélène Larraufie



Marie-Hélène Larraufie (27 ans) a effectué ses études à l'ESPCI ParisTech. Après un master 2 recherche en chimie organique et bioorganique à l'Université Pierre et Marie

Curie, elle a rejoint le groupe de Max Malacria (Institut parisien de chimie moléculaire, UMR 7201) pour y effectuer son doctorat sous la direction de Louis Fensterbank et Emmanuel Lacôte. Sa thèse, obtenue en novembre 2011, portait sur le développement de nouvelles cascades radicalaires et sur l'utilisation de la catalyse photoredox en lumière visible pour la génération écoresponsable de radicaux. Elle a également collaboré avec l'équipe du professeur Catellani (Parma University, Italie) sur l'étude de nouvelles réactions multicomposants catalysées au palladium. Depuis janvier 2012, elle effectue un stage post-doctoral au sein du groupe de Brent Stockwell (Columbia University, New York) grâce à un financement de l'Association pour la recherche sur le cancer (ARC). Ses travaux de recherche actuels, à l'interface de la chimie et de la biologie moléculaire, concernent l'utilisation d'une stratégie convergente de génétique et synthèse chimique pour permettre l'inhibition sélective des oncoprotéines de la famille Ras.

Prix industriel

• Pierre Deprez



Ingénieur de l'École Nationale de Chimie de Paris (1987), Pierre Deprez a effectué une thèse de synthèse organique à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN, CNRS) sous la direction d'Henri-Philippe Husson et Jacques Royer. Il commence sa carrière industrielle chez Roussel-Uclaf en 1991 dans le domaine de la chimie cardiovasculaire (antagoniste de l'angiotensine II). Au fil des différentes fusions-acquisitions (RU devenu HMR, puis Aventis), il s'oriente en 1996 dans le domaine des maladies osseuses (ostéoporose) où il prend ses premières responsabilités de chef de projet (protéine kinase Src). En 2002, il participe activement à la création de ProSkelia, spin-off du domaine des maladies osseuses d'Aventis, et devient responsable du groupe de chimie médicinale de cette

nouvelle biotech française de cent chercheurs. Après le rachat de ProSkelia par Galapagos fin 2006, il est nommé directeur du groupe de chimie médicinale.

Ces dix dernières années, il a travaillé dans le domaine des maladies de l'os et du cartilage, de la perte musculaire et l'inflammation. Avec son équipe, il a contribué à sélectionner des candidats précliniques à la fois dans le cadre de projets de recherche internes (récepteur nucléaire androgène – SARM – et antagoniste des récepteurs intégrines – IRA), ainsi que dans le cadre de projets en collaboration avec différents groupes pharmaceutiques (Amgen : modulateur allostérique du récepteur calcium CaSR ; GSK : inhibiteur de kinase Jak et antagoniste du GPR43). La majorité de ces candidats sont actuellement en cours d'études cliniques de phase 1 ou 2.

Co-auteur d'une cinquantaine de publications et brevets, Pierre Deprez a partagé avec son équipe au cours de ces dix années dans le monde des biotechs son enthousiasme pour la recherche et sa passion de la chimie médicinale afin d'identifier les molécules qui seront les traitements innovants de demain dans les domaines de l'os, du cartilage et de l'inflammation.

Prix de thèse Dina Surdin

• Anne-Caroline Chany



Anne-Caroline Chany a effectué ses études à l'École Nationale Supérieure de Chimie de Mulhouse (ENSCMu) et a obtenu son diplôme d'ingénieur et son master en 2008, après un an passé en césure à Novartis (Vienne, Autriche). Elle a poursuivi sa formation en doctorat (2008-11) sous la direction de Nicolas Blanchard au Laboratoire de chimie organique et bio-organique (Univ. de Haute-Alsace).

Ses travaux de thèse ont porté sur la synthèse d'analogues de mycolactones, toxines responsables de l'ulcère de Buruli, et sur leur évaluation biologique. Une stratégie de synthèse modulable impliquant plusieurs réactions de couplage catalysées par des métaux (fer, cuivre, palladium) a été développée, permettant l'obtention de plusieurs analogues de mycolactones. L'activité biologique des analogues a été évaluée et les premiers résultats obtenus permettent d'établir un début de relations structure-activité devant conduire à une meilleure compréhension du mécanisme d'action de ces toxines. La synthèse d'analogues

fluorescents a également été effectuée et devrait permettre l'identification d'une cible potentielle de ces toxines. Anne-Caroline Chany poursuit actuellement ces travaux de recherche grâce à un financement de la fondation Raoul Follereau.

Chimie physique

Prix de thèse

• Aude Bouchet



Aude Bouchet a effectué sa thèse sur l'étude des propriétés chiroptiques de cryptophanes hydrosolubles lors de l'encapsulation de molécules invitées à l'Institut des sciences moléculaires de Bordeaux (UMR 5255) sous la direction de Thierry Buffeteau et Dominique Cavagnat. Elle est aujourd'hui en postdoctorat à l'Institut des sciences moléculaires d'Orsay (UMR 8214, Université Paris Sud).

Les cryptophanes constituent une famille de molécules chirales qui comportent une cavité dans laquelle elles peuvent accueillir des espèces invitées de taille et de nature variables (halogénométhanes, xénon, cations). La chiralité de ces systèmes a été utilisée pour étudier les propriétés d'encapsulation présentées par trois cryptophanes solubles dans l'eau, au moyen de techniques chiroptiques : polarimétrie, dichroïsme circulaire électronique (ECD) et dichroïsme circulaire vibrationnel (VCD), cette dernière technique étant associée à des calculs de chimie théorique. Différents paramètres, tels que le pH de la solution et la nature des contre-ions présents dans la solution, ont un rôle important sur la complexation de molécules invitées par ces cages moléculaires. L'encapsulation induit de plus des modifications conformationnelles sur les cryptophanes : en modifiant la conformation de leurs chaînes latérales, ces molécules hôtes adaptent le volume de leur cavité à l'espèce invitée qu'elles hébergent. D'autre part, les cryptophanes hydrosolubles énantiopurs ont révélé des propriétés d'énantio-discrimination vis-à-vis de petites molécules invitées chirales. Cette reconnaissance chirale varie selon la nature des groupements attachés sur les cycles aromatiques de la cage. Enfin, les cryptophanes ont montré une affinité exceptionnelle pour le cation césium Cs⁺ en solution aqueuse. Les résultats concernant l'énantio-discrimination et la complexation du césium par les cryptophanes hydrosolubles font de ces systèmes des

composés très prometteurs pour différentes applications. La détection du césium radioactif (^{137}Cs) est en effet un enjeu important en chimie de l'environnement : disposer de senseurs ayant une très forte affinité pour ces cations, tout en étant également très sélectifs, peut se révéler très utile. D'autre part, l'énantiosélectivité des cryptophanes peut être exploitée pour l'élaboration de nouvelles phases stationnaires en chromatographie chirale.

• Guillaume Stirnemann



Qui soupçonnerait en contemplant un verre d'eau que sous sa surface paisible se déchaîne une véritable tempête microscopique au cours de laquelle les liaisons entre une molécule d'eau et ses voisines se font et se défont à l'échelle du millième de milliardième de seconde ? Et sachant que l'eau est rarement présente à l'état de corps pur, *a fortiori* en chimie et en biologie, comment ce ballet incessant est-il affecté par la présence de solutés très variés ? Au cours de sa thèse sur la dynamique de l'eau et des liaisons hydrogène en solution, sous la direction de Damien Laage au Département de chimie de l'ENS Paris (UMR 8640), Guillaume Stirnemann a étudié des aspects clés de la dynamique de réorientation de l'eau à l'aide de simulations numériques et de modèles analytiques, en forte connexion avec les résultats expérimentaux. Ce travail portait essentiellement sur le mécanisme moléculaire de la réorientation, qui implique des sauts angulaires de grande amplitude permettant l'échange de partenaires de liaisons hydrogène. Ainsi dans le cas du bulk, il a pu éclaircir quelques aspects fondamentaux de la dépendance en température de la réorientation et a proposé une interprétation de résultats expérimentaux récents de spectroscopie non linéaire. Il a par ailleurs rationalisé l'effet de solutés très variés (hydrophobes, amphiphiles, surfaces étendues) sur la dynamique de l'eau, et montré que la réorientation de l'eau n'est que faiblement ralentie par la présence de groupes hydrophobes, alors que les groupes hydrophiles peuvent avoir un effet bien plus important sur la dynamique. Ceci forme donc un cadre unique pour comprendre ultérieurement la dynamique de l'eau dans des systèmes plus complexes, en particulier les milieux biologiques. Aujourd'hui post-doctorant au Département de chimie de la Columbia

University (New York), il étudie le comportement de protéines soumises à des contraintes mécaniques.

Prix Jeune chercheur

• Damien Laage



Après sa thèse à l'École Normale Supérieure et à l'Université du Colorado à Boulder sous la direction de Casey Hynes et Monique Martin, Damien Laage a effectué un séjour post-doctoral dans l'équipe de Michele Parrinello (ETH Zürich) puis a rejoint le Département de chimie de l'ENS comme chargé de recherche CNRS en 2002.

Les travaux de ce chimiste théoricien, qui s'intéresse à la réactivité et à la spectroscopie en solution et dans les milieux biochimiques, portent en particulier sur le rôle critique joué par le solvant dans la détermination des mécanismes d'actes élémentaires et de leur cinétique. Après s'être intéressé au rôle de solvants polaires dans des réactions de transfert d'électron et de proton, il a étudié la dynamique des liaisons hydrogène dans l'eau, les réarrangements du réseau de liaisons hydrogène de l'eau jouant un rôle majeur dans une très large gamme de processus en solution (transport des ions ou repliement des protéines), mais aussi dans de nombreuses réactions chimiques. Il a participé à élucider le mécanisme moléculaire gouvernant la réorientation de l'eau et l'échange de liaisons hydrogène, les facteurs déterminant leur cinétique, et la façon dont ce mécanisme change en présence d'une large gamme de solutés, hydrophobes ou hydrophiles, petits ou étendus, y compris jusqu'à des solutés très complexes comme des protéines.

Il s'intéresse désormais au rôle si particulier joué par l'eau dans le fonctionnement du vivant, cherchant à comprendre en particulier l'action de l'eau dans la catalyse enzymatique à l'échelle moléculaire. Au-delà de leur intérêt fondamental, ces études auront également des retombées pratiques. Pour les nombreux processus industriels catalysés par des enzymes en l'absence d'eau, ce travail devrait guider l'optimisation de l'activité catalytique.

• Olivier Sandre



Après sa thèse en 2000 sur l'étude dynamique des pores dans les liposomes géants à l'Institut Curie et un post-doctorat au MRL-Santa Barbara en Californie sur l'étude

de microtubules protéiques, Olivier Sandre a été recruté au CNRS pour développer des matériaux nanostructurés à base de nanoparticules magnétiques, au sein du laboratoire LI2C (Univ. Pierre et Marie Curie), devenu PECSA en 2009. Ces nanomatériaux étaient de différentes natures (polymères, lipides, cristaux liquides...), de tailles et formes variées (matrices macroscopiques, films minces, objets dispersés...), mais dans tous les cas, l'objectif était de moduler leurs propriétés par des paramètres extérieurs tels que la température ou l'application d'un champ magnétique. Comme exemples de tels systèmes ayant pu être dopés par des nanoparticules magnétiques, on peut citer : les hydrogels chimiques (pour certains thermosensibles), les vésicules de copolymères à blocs amphiphiles ou polymersomes (avec Sébastien Lecommandoux), les coacervats avec des copolymères diblocs double-hydrophiles (avec Jérôme Fresnais et Jean-François Berret) ou les films lamellaires de copolymères diblocs (avec Maud Save et Bernadette Charleux).

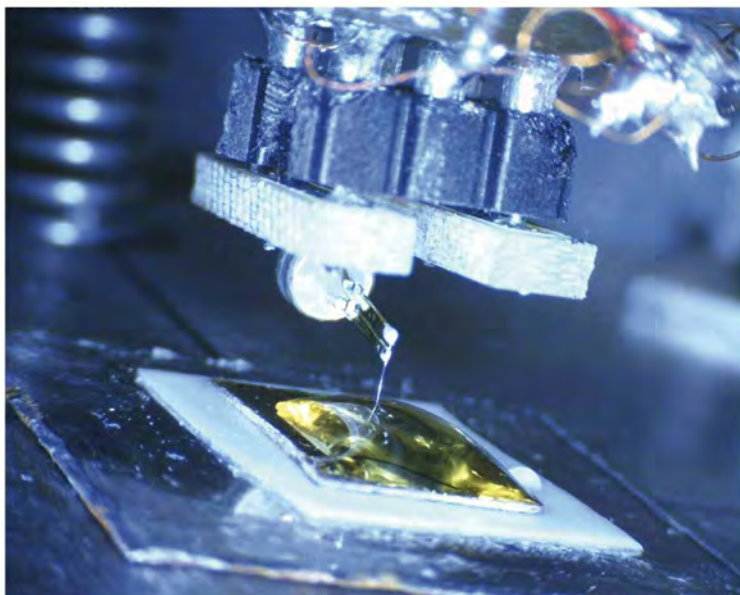
De par sa double formation, en tant qu'ingénieur ESPCI, en physique et en chimie, Olivier Sandre s'est intéressé à la fois à la synthèse des matériaux, à leur mise en forme avec des outils nouveaux tels que la microfluidique, et à l'étude et l'optimisation de leurs propriétés, en privilégiant les approches de type lois d'échelle. Ayant rejoint le LCPO (Laboratoire de chimie des polymères organiques, UMR 5629 CNRS) à Bordeaux en 2010 dans l'équipe « Polymer nanotechnology for life sciences », il s'intéresse désormais plus particulièrement aux applications médicales des particules magnétiques comme agents de contraste en IRM et aux mécanismes de libération contrôlée d'actifs thérapeutiques par des polymersomes magnétiques biocompatibles.

La fin de l'année approche...

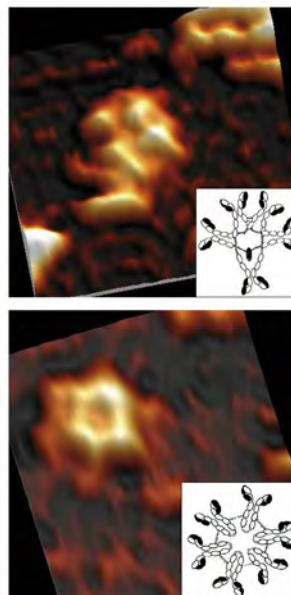
Pensez dès maintenant à votre adhésion 2013 à la SCF et à votre réabonnement à L'Actualité Chimique.

Quelques thèmes à venir : « Le CO_2 valorisé par la chimie », « Les biotechnologies » et « La chimie mène l'enquête » (vol. 2).

• www.societechimiquedefrance.fr/spip.php?page=adhesion_scf



Nanosonde de force à capteur intégré piézoélectrique : une nouvelle approche pour scuter la protéine.



inenvissable en solution turbide. De nouvelles méthodes de détection avec une intégration moins perturbante vis-à-vis de l'échantillon étudié sont nécessaires pour démocratiser la mesure de force par sonde locale et la reconnaissance moléculaire sur des systèmes biologiques. Les travaux développés par Jérôme Polesel (CEA Saclay, DSM-IRAMIS) apportent une approche originale pour lever ces verrous en

proposant l'utilisation inédite d'une **sonde à capteur intégré piézoélectrique en milieu biologique**. Cette nouvelle méthodologie de fonctionnalisation confère des propriétés d'accrochage biochimique spécifique entre l'extrémité de la pointe de cette sonde AFM et des matériaux biologiques. Avec une sensibilité en force de l'ordre de la centaine de piconewtons, ce type de sonde permet une **caractérisation à l'échelle d'une seule protéine**.

Prix d'instrumentation

• Jérôme Polesel



Avec sa capacité à observer, manipuler et explorer les composants fonctionnels de la cellule avec une résolution nanométrique, le microscope à force atomique (AFM) a révolutionné les recherches en nano-biotechnologies et est devenu un instrument incontournable, offrant

de nouvelles opportunités d'analyse ultrafine pour la nanomédecine et le diagnostic personnalisé. Néanmoins, les systèmes AFM actuels utilisent un système de détection de déflexion du microlevier par laser difficilement intégrable sur un système de microscope optique, ou bien source d'artefacts de mesure à cause de la présence du laser. Ce laser peut aussi devenir un obstacle pour l'étude de systèmes biologiques photosensibles. Cette détection optique est aussi

CONCOURS Parlons chimie

Le concours de communication des Olympiades Nationales de la Chimie évolue

Des élèves de lycée mettent en œuvre une action de communication sur un sujet qui s'inscrit dans les problématiques de la chimie actuelle en lien avec une activité régionale ou un métier de la chimie pour un public défini. Résumé des principales modifications pour cette nouvelle édition :

Le titre Les candidats L'objectif Le sujet La procédure d'inscription Le jury Le dépôt de documents La présélection Le calendrier	devient : « Parlons Chimie » les élèves des classes de premières et de terminales des lycées, toutes filières confondues. Le jury saura tenir compte des différences de formation et de niveau. mise en œuvre d'une action de communication, si possible avant le concours national, en direction d'un public défini. toujours en lien avec une activité régionale mais aussi un métier de la chimie. s'effectue sur le site ; dans un premier temps un correspondant s'inscrit et définit le projet. Par la suite tous les élèves sont inscrits. prend contact avec le correspondant dès son inscription pour conseiller le groupe en accord avec le délégué académique . sur un site dédié permet de suivre l'évolution du projet. est repoussée à quelques semaines du concours national dont la forme reste inchangée. Date limite d'inscription : 15 décembre 2012. Présélection : 13 mars 2013. Concours national : 11 avril 2013. Remise des prix du concours national à la Maison de la Chimie : 12 avril 2013.
--	---

• <http://parlons-chimie.olympiades-chimie.fr>

Les verres biogéniques

Matériau très courant, le verre est toutefois fabriqué dans des conditions difficiles. Obtenu par fusion de sable de silice au-dessus de 1 000 °C, il est mis en forme, par soufflage ou coulée, lors de la fusion pâteuse aux environs de 600 °C. Le verre est né du feu et le four a de tous temps été le compagnon indispensable du verrier. Pourtant, certains organismes marins ont découvert le moyen de fabriquer du verre à température ambiante. L'eau remplace le feu et les verres biogéniques présentent des architectures remarquables qui possèdent des propriétés étonnantes ! Pourrait-on s'inspirer du vivant pour élaborer de nouveaux matériaux [1] ?

Le silicium, sous forme de silice ou de silicate, est l'un des éléments les plus abondants de l'écorce terrestre. Il intervient aussi comme constituant principal de nombreux matériaux tels que le verre, la céramique ou le béton. Et pourtant, curieusement, il n'est que très peu utilisé par le vivant pour élaborer ses biomatériaux. Certaines plantes, comme le riz, le bambou, les prêles ou les orties, sont relativement riches en silice. Les propriétés thérapeutiques de cette silice végétale, souvent appelée « silicium organique », sont utilisées contre le vieillissement pour renforcer les tissus ou le squelette. Cependant, la silice présente dans ces plantes n'est pas à proprement parlé un biomatériau. Elle ne présente pas de structure particulière. Ce sont en général de simples précipités appelés « phytolithes », ce qui signifie « pierre des plantes ».

La silice biogénique, utilisée comme biomatériau, ne se trouve que chez quelques espèces aquatiques telles que des micro-algues (diatomées, radiolaires) et certaines éponges. Elle ne présente pas de structure cristallographique régulière comme le quartz mais, bien qu'elle soit amorphe comme un verre, elle exhibe des morphologies absolument extraordinaires qui dépassent de loin tout ce que nos souffleurs de verre savent faire !

Les spicules d'éponges

Les spicules sont des petites structures minérales (calcaire ou silice) qui forment le squelette de l'éponge. Leur taille et leur forme varient d'une espèce à l'autre [2].

Les hexactinellides ou éponges de verre sont appelées ainsi parce que leurs spicules sont en silice. Certaines de ces éponges élaborent des spicules de très grande taille qui peuvent atteindre plusieurs mètres et servent d'ancrage dans la vase.

L'éponge *Euplectella aspergillum* élabore des spicules formés de six points orientés selon trois axes. Ces spicules peuvent s'assembler pour former des architectures sophistiquées en forme d'épuisette. Ces filets, qui peuvent atteindre plusieurs dizaines de centimètres, servent à capturer les crustacés dont l'éponge se nourrit. On les appelle parfois « éponges à crevettes » car il est assez fréquent qu'un couple de jeunes crevettes entre dans l'éponge à travers le fin treillis de spicules. Elles y trouvent protection et

nourriture abondante, qui leur assurent une croissance rapide. Mais elles sont alors piégées, car devenues trop volumineuses pour repasser par le treillis, et sont donc condamnées à passer le reste de leur vie dans l'éponge. Les deux crevettes, devenues ainsi inséparables jusqu'à la mort, symbolisent la fidélité conjugale. Au Japon ces « corbeilles de Vénus » sont un symbole d'amour éternel que l'on offre lors d'un mariage traditionnel.

En dehors de leur caractère symbolique, ces fibres de verre biogénique présentent des propriétés optiques tout à fait remarquables qui dépassent de loin nos meilleures fibres optiques. C'est ainsi que l'éponge *Monorhaphis chuni* fabrique une fibre de quelques millimètres de diamètre et de plusieurs mètres de longueur grâce à laquelle elle s'ancre sur les fonds sableux. Cette fibre est constituée de couches de silice concentriques qui se déposent autour d'un fil de protéines. Elle est dotée non seulement de propriétés mécaniques remarquables, mais aussi d'une transparence bien supérieure à celle des meilleures fibres optiques utilisées dans les télécommunications ! Synthétisés à basse température, ces spicules de verre contiennent des additifs tels que des ions sodium, qui améliorent leur transparence. Les propriétés mécaniques sont aussi sensiblement améliorées par la présence d'une substance organique, la spiculine. De tels additifs ne sont évidemment pas possibles lorsque la fibre de verre est élaborée à haute température [3] !

Les diatomées, des nanomatériaux vivants !

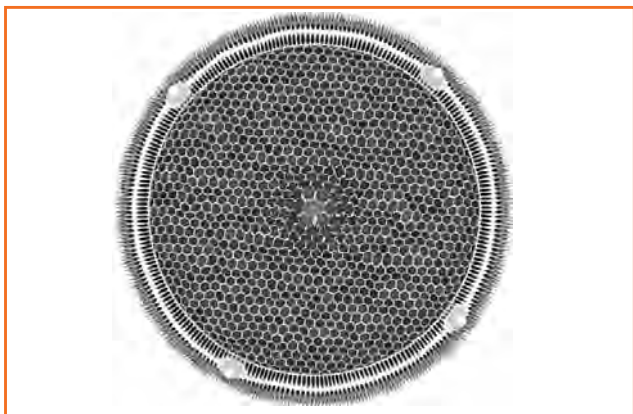
La plus grande partie du verre biogénique est élaborée par des micro-organismes du plancton marin, les radiolaires et surtout les diatomées [4]. Les diatomées

sont des micro-algues unicellulaires. Elles jouent un rôle essentiel dans notre écosystème puisqu'elles consomment, via la photosynthèse, le quart du CO₂ que nous produisons. Elles se protègent en s'entourant d'une coque de silice appelée « frustule ». Cette enveloppe doit être dure pour protéger la cellule et transparente pour laisser passer la lumière nécessaire à la photosynthèse. Ces deux propriétés sont caractéristiques du verre, ce qui explique pourquoi les diatomées ont choisi la silice plutôt que les carbonates comme leurs voisins coquillages.

Cette source de verre biogénique est loin d'être négligeable : sa production par les diatomées dépasse l'ensemble de la production mondiale de verre industriel ! La silice biogénique ainsi produite se retrouve, après plusieurs millions d'années, sous forme de sédiments (terre de diatomées, diatomite, kieselguhr...) que l'on utilise couramment à l'échelle industrielle. Matériau très poreux, il sert pour filtrer les liquides alimentaires tels que le vin. C'est en l'imprégnant de nitroglycérine qu'Alfred Nobel a obtenu la dynamite !



Il existe plus de 100 000 espèces de diatomées, micro-algues unicellulaires qui s'entourent de carapaces de verre (frustules). Leur beauté avait séduit Ernst Haeckel, artiste naturaliste allemand du XIX^e siècle, qui en publia de nombreuses gravures dans son ouvrage *Kunstformen der Nature*.



Les carapaces de verre des diatomées, véritables nanomatériaux vivants, présentent une porosité parfaitement régulière qui leur confère des propriétés de cristal photonique.

Bien qu'elles soient faites de verre amorphe, les frustules de diatomées présentent des morphologies tout à fait extraordinaires. Il existe plus de 100 000 espèces différentes de diatomées caractérisées chacune par une morphologie originale. Charles Darwin écrivait : « Il y a peu d'objets plus admirables que les délicates enveloppes siliceuses des diatomées. » Elles ont inspiré bien des artistes comme l'artiste naturaliste allemand Ernst Haeckel qui, dans son ouvrage *Kunstformen der Natur* (1899-1904), publia de nombreuses gravures de ces micro-organismes marins.

En fait, la caractéristique essentielle des frustules de silice est leur porosité, absolument nécessaire pour permettre les échanges métaboliques entre la cellule et le milieu extérieur. Ce qui est remarquable, c'est que cette porosité présente une structure hiérarchisée avec trois tailles de pores (petits, moyens, grands). Comment les diatomées font-elles pour élaborer une telle structure hiérarchique à trois dimensions ? Dans les technologies modernes, de telles structures sont obtenues par dépôts de couches successives.

Mais ceci n'est pas la caractéristique la plus remarquable des diatomées. Les pores ne sont pas distribués de manière aléatoire à la surface des frustules. Ils forment un réseau périodique régulier dont le paramètre de maille, de quelques dixièmes de microns, est compatible avec la longueur d'onde de la lumière visible. Les diatomées sont de véritables cristaux photoniques vivants ! Comment ont-elles pu, il y a près de 300 millions d'années, inventer de telles structures que nos physiciens ont découvertes il y a vingt ans à peine ? Les couleurs structurales liées à des motifs réguliers sont très répandues dans la nature. Elles sont responsables de l'iridescence des ailes de papillons, de la nacre ou des opales. Les diatomées sont d'ailleurs parfois surnommées « opales des mers ». Mais n'y a-t-il pas une raison plus profonde à une telle structure photonique ? Des travaux récents ont montré que les frustules de diatomées étaient capables de focaliser les rayons lumineux. Les diatomées ne joueraient-elles pas avec la lumière du Soleil pour optimiser leur photosynthèse en focalisant le visible sur les chloroplastes tout en réfléchissant les UV qui pourraient détruire la cellule ?

Depuis quelques années, les scientifiques ont montré qu'il était possible d'utiliser ces frustules pour réaliser des matériaux nanostructurés. On peut par exemple introduire des éléments étrangers tels que le germanium dans le milieu de culture, de

façon qu'ils se retrouvent dans le squelette de silice auquel ils confèrent une luminescence bleue. On peut aussi, par traitement chimique, modifier la nature du frustule sans en changer la morphologie. On obtient ainsi des céramiques nanostructurées (TiO_2 , BaTiO_3 , MgO ...), et on peut même réduire la silice en silicium, le matériau roi de l'électronique ! Ces frustules modifiés présentent des propriétés intéressantes pour la réalisation de batteries ou de panneaux solaires [5].

Du verre biogénique à la chimie douce et la nanomédecine !

Le verre est formé de tétraèdres $[\text{SiO}_4]$ liés les uns aux autres par leurs sommets. On peut donc le considérer comme un polymère $[\text{SiO}_4]_n$ et l'obtenir par association d'entités moléculaires. C'est ce que réalisent les diatomées depuis plus de 200 millions d'années. Elles utilisent la silice dissoute sous forme d'acide silicique $\text{Si}(\text{OH})_4$ pour élaborer, au sein même de la cellule, les nanoparticules de silice qui vont former le frustule :



Ces réactions de polymérisation inorganique sont à la base des procédés sol-gel que l'industrie verrière développe depuis plus de 50 ans. Ces méthodes d'élaboration connaissent aujourd'hui un essor important. Pour l'industriel, l'intérêt essentiel réside dans la possibilité de mettre en forme le verre directement à partir de la solution sans passer par la fusion pâteuse. Le principal avantage de cette chimie douce est qu'il devient possible d'associer des espèces fragiles telles que les molécules organiques ou biologiques (enzymes, anticorps...) à des matériaux « haute température » tels que les verres ou les céramiques. On obtient ainsi des hybrides organo-minéraux ou biominéraux, véritables nanocomposites à l'échelle moléculaire, qui offrent une synergie entre le minéral et l'organique [6]. À l'exemple des diatomées, il est même possible d'encapsuler des organismes unicellulaires tels que des bactéries afin d'obtenir de véritables matériaux vivants. Protégées du milieu extérieur, ces cellules, végétales ou animales, conservent leurs propriétés métaboliques et peuvent servir à élaborer de nouveaux biocapteurs ou bioréacteurs.

De nombreux chercheurs utilisent maintenant les propriétés des nanoparticules de silice mésoporeuse comme vecteur thérapeutique afin de transporter des médicaments au sein des tumeurs. Ces nanomédicaments permettent de diminuer la toxicité des agents thérapeutiques et d'accroître leur efficacité en les délivrant au sein même des cellules malades, tout en épargnant les cellules saines. Les recherches avancent rapidement et des essais cliniques sont actuellement en cours [7].

- [1] Livage J., Vers une chimie douce bio-inspirée, *L'Act. Chim.*, **2011**, 348-349, p. 64.
- [2] Schröder H.C., Wang X., Tremel W., Ushijima H., Müller W.E.G., Biofabrication of biosilica-glass by living organisms, *Natural Product Reports*, **2008**, 25, p. 455.
- [3] Aizenberg J., Sundar V.C., Yablon A.D., Weaver J.C., Chen G., Biological glass fibers: correlation between optical and structural properties, *Proceedings of the National Academy of Science*, **2004**, 101, p. 3358.
- [4] Livage J., Coradin T., Le verre biologique inspire les chimistes, *Pour la Science*, **2008**, 371, p. 30.
- [5] Nassif N., Livage J., From diatoms to silica-based biohybrids, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, p. 849.
- [6] Sanchez C., Belleville P., Popall M., Nicole L., Applications of advanced hybrid organic-inorganic nanomaterials, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, p. 696.
- [7] Vallet-Regi M., Colilla M., González B., Medical applications of organic-inorganic hybrid materials within the field of silica-based bioceramics, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, p. 596.



Cette fiche a été préparée par **Jacques Livage**, professeur au Collège de France (jacques.livage@upmc.fr). Les fiches « Un point sur » sont coordonnées par un comité éditorial mené par Jean-Pierre Foulon, Véronique Nardello-Rataj et Michel Quarton (contact : bleneau@lactualitechimique.org).

Abonnement 2013 (numéros spéciaux inclus)

Cochez la case qui correspond à l'abonnement auquel vous voulez souscrire :

	Abonnement papier + électronique*		Abonnement électronique seul*	Abonnement multiple**
	France	Étranger	France / Étranger	France / Étranger
Particuliers	☐ 95 €	☐ 100 €	☐ 55 €	(pour les lycées et les institutions)
Lycées	☐ 110 €	☐ 130 €	☐ 70 €	☐ 400 €
Institutions	☐ 195 €	☐ 205 €	☐ 155 €	☐ 400 €

* Courriel obligatoire ** Adresse IP obligatoire (cet abonnement correspond à un abonnement papier + dix abonnements électroniques + l'accès aux archives de la revue)

Complétez votre collection

Les sommaires de tous les numéros peuvent être consultés sur notre site www.lactualitechimique.org

Numéros spéciaux également disponibles en **version électronique** sur le site à un tarif préférentiel

- ☐ Toxicologie environnementale et humaine (oct.-nov. 2012) : 32 €
- ☐ Danses avec les spins. La résonance magnétique nucléaire en chimie (juin-juil.-août 2012) : 32 €
- ☐ Fibres et textiles chimiques : matériaux du XXI^e siècle (fév.-mars 2012) : 32 €
- ☐ Le rayonnement synchrotron, une lumière pour comprendre la chimie (oct.-nov. 2011) : 32 €
- ☐ Chimie et société : construire un dialogue (sept. 2011) : 24 €
- ☐ La chimie prépare notre avenir, vol. 2 (juin-juil.-août 2011) : 32 €
- ☐ La chimie prépare notre avenir, vol. 1 (janv.-fév. 2011) : 32 €
- ☐ La chimie mène l'enquête (juin-juil.-août 2010) : 15 €
- ☐ Chimie et développement durable. L'engagement des écoles de la Fédération Gay-Lussac (fév.-mars 2010) : 15 €
- ☐ Adolphe Pacault, un acteur majeur dans la renaissance de la chimie physique en France (déc. 2009) : 15 €
- ☐ Electrochimie & Art, Environnement, Santé, Nanosciences... (fév.-mars 2009) : 15 €
- ☐ Les cosmétiques. La science au service de la beauté (oct.-nov. 2008) : 15 €
- ☐ Chimie organique physique. Hommage à Jacques-Émile Dubois (juin-juil. 2008) : 15 €
- ☐ Chimie et patrimoine culturel, vol. II (avril 2008) : 15 €
- ☐ La photochimie pour transformer la matière (mars 2008) : 15 €
- ☐ Chimie et patrimoine culturel, vol. I (oct.-nov. 2007) : 15 €
- ☐ La photochimie pour mieux vivre (mai-juin 2007) : 15 €
- ☐ Fluor et produits fluorés à l'aube du XXI^e siècle (oct.-nov. 2006) : 15 €
- ☐ Les matériaux carbonés (mars-avril 2006) : 15 €
- ☐ Chimie moléculaire et nanosciences (oct.-nov. 2005) : 15 €
- ☐ Sciences chimiques et déchets radioactifs (avril-mai 2005) : 15 €

Liste complète des numéros thématiques sur www.lactualitechimique.org/tarifs.php#numero

Achat à l'unité hors numéros spéciaux

11 € pour les numéros avant 2012 ; 20 € à partir de 2012

(à partir de 2005, ces numéros sont également disponibles en version électronique sur le site)

- ☐ Numéro(s) souhaité(s) :

Hors-séries "L'Actualité Chimique - Livres", co-édités et diffusés par EDP Sciences

- La chimie et la nature (oct. 2012) : 24 €
- La chimie et l'habitat (oct. 2011) : 24 €
- La chimie et le sport (janv. 2011) : 24 €
- La chimie et l'alimentation (oct. 2010) : 24 €
- La chimie et l'art (juin 2010) : 24 €
- La chimie et la santé (janv. 2010) : 19 €
- La chimie et la mer (sept. 2009) : 24 €
- Radiation chemistry (mai 2008) : 59 €

**À commander
chez votre libraire
ou directement sur
www.edition-sciences.com**



Bon de commande

Nom Prénom

Adresse (pour les particuliers, préciser l'adresse personnelle)

Code Postal Ville Pays

Tél Fax Courriel

Adresse IP (pour l'abonnement multiple)

Montant total de la commande (frais de port inclus) :

Mode de règlement

- ☐ sur facturation (joindre obligatoirement le bon de commande)
- ☐ par chèque bancaire ou postal libellé à l'ordre de la SCF ☐ souhaite recevoir une facture acquittée
- ☐ par virement bancaire ou postal

France Société Générale Paris Seine Amont, 03081/00037265820/87 CCP Paris 30041 Compte 070786U020/90

Étranger IBAN FR7630003030810003726582087 Swift.Sogefrpp

- ☐ par carte bancaire (Visa, Eurocard Mastercard) Validité /

Cryptogramme visuel (les trois derniers chiffres du numéro imprimé au dos)

L'Actualité Chimique

SCF, Service Abonnement, 250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris. Tél. : 01 40 46 71 66 - Fax : 01 40 46 71 61.
adhesion@societechimiquedefrance.fr - www.lactualitechimique.org



Parfois je rêve de molécules.

Mireille Krier
Chercheuse
Chimie Computationnelle

Cela m'arrive plus particulièrement lorsque j'essaie de résoudre un problème sur la structure d'une molécule. Je me réveille alors, et soudain, je trouve la solution.

Nous utilisons des modèles informatiques en 3D pour mieux comprendre la structure et le fonctionnement des protéines, qui jouent un rôle dans le développement de la maladie. Nous synthétisons des molécules qui peuvent « s'accrocher » et limiter son activité sur la prolifération des cellules.

Ce que fait notre équipe ne représente qu'une pièce du puzzle. Cela peut prendre de nombreuses années avant de mettre au point un médicament. Mais la possibilité que mon travail puisse réduire l'impact de la maladie et donner une meilleure qualité de vie au patient donne un sens à tout cela.

C'est un rêve qui en vaut la peine.

Merck Serono est la division biopharmaceutique de Merck, un groupe pharmaceutique et chimique international. En mettant les connaissances scientifiques au profit des avancées thérapeutiques, Merck Serono propose des solutions innovantes dans ses domaines de spécialité : oncologie, maladies neurodégénératives, rhumatologie, fertilité et endocrinologie.

Retrouvez d'autres témoignages sur : <http://stories.merckserono.com>