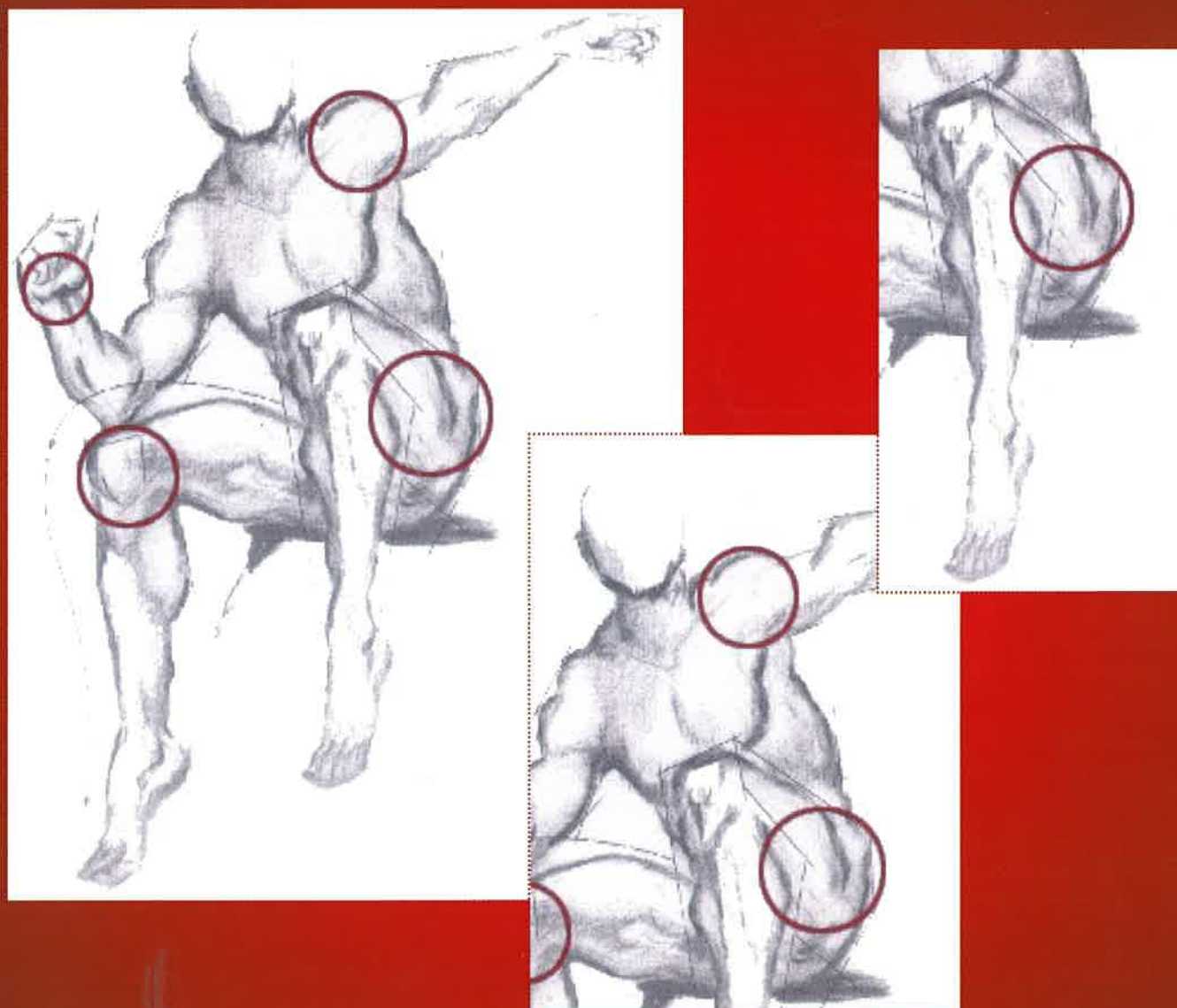


Mensuel  
numéro

7

Juillet 2003

# l'actualité chimique



**Biomimétisme  
et  
biomatériaux**

**sfc**  
société  
française  
de chimie

## *Lettre ouverte des Sociétés Savantes Scientifiques Françaises au Président de la République*

**M**onsieur le Président,

La recherche fondamentale française est en danger. Les enjeux sont considérables, et le devoir des sociétés savantes que nous représentons est de vous alerter.

Les nations développées s'accordent toutes pour considérer que leurs économies reposent désormais de manière essentielle sur la qualité de leur recherche, sur la capacité de leurs industries à innover, à s'adapter, à développer des technologies nouvelles et sur leur niveau d'éducation qui est corrélé à la qualité de leurs laboratoires. Cette capacité dépend principalement des découvertes de la recherche fondamentale en Biologie, en Chimie, en Mathématique et en Physique.

Les progrès spectaculaires récents des Sciences de l'Information ou de la Médecine, proviennent des travaux réalisés en amont par toutes les sciences de base. Une recherche fondamentale dynamique est indispensable à la génération d'innovations véritables qui sont, par essence, imprévisibles. Elle est aussi absolument nécessaire à la formation des futurs spécialistes de haut niveau dont l'industrie et la technologie ont besoin. Toutes les grandes questions qui préoccupent légitimement nos concitoyens, qu'il s'agisse d'environnement ou de santé par exemple, demandent un accroissement très important de nos connaissances. Les enjeux de la recherche scientifique sont énormes et se traduisent de plus en plus rapidement dans la vie quotidienne de chacun. Ils sont la clé de notre économie de demain.

D'autres pays l'ont bien compris qui font de la recherche scientifique une priorité absolue. La France doit

continuer à être un acteur de premier plan. Les difficultés sociales et économiques que traverse notre pays et dont nous sommes conscients ne doivent pas nous entraîner à sacrifier les intérêts à long terme de la Nation. Si nous perdons notre compétitivité dans ce domaine, il sera long et coûteux, voire impossible, d'y remédier. Nous ne sommes pas le seul pays à connaître de telles difficultés, mais nous sommes le seul où des décisions aussi dangereuses pour notre avenir aient été prises.

La tradition scientifique française a permis à notre pays d'atteindre un très haut niveau dans le concert mondial. L'État est quasiment en France le seul à soutenir la recherche fondamentale. Quelle que puisse être leur bonne volonté, les entreprises ne prendront pas le relais de la recherche publique car elles sont soumises à des contraintes économiques le plus souvent à très court terme qui les empêchent d'investir dans l'avancement de la connaissance.

Le potentiel scientifique des organismes de recherche français est très élevé, comme en témoigne la qualité des recrutements. Certes, il doit être possible d'améliorer le fonctionnement de notre appareil de recherche. Nous souhaitons qu'une réflexion soit engagée, pour examiner sereinement et sans a priori les avantages et défauts de notre système. Les sociétés que nous représentons sont prêtes à jouer un rôle dynamique, d'abord dans ce processus d'évaluation, ensuite pour la mise en œuvre des réformes qui pourraient s'avérer nécessaires. Mais il ne faut surtout pas détruire un patrimoine aussi précieux que le nôtre.

Les difficultés que nous traversons ne sont rien en comparaison de celles

que nous connaissons si l'absence de politique scientifique claire et ambitieuse nous condamne à l'appauvrissement, faute de pouvoir développer les technologies nouvelles qui seront notre richesse de demain. Notre recherche régressera rapidement si nos meilleurs chercheurs, après avoir fait leurs preuves, ne reçoivent qu'à l'étranger les moyens nécessaires au développement de leurs projets.

C'est dans ce contexte que notre devoir est d'appeler l'attention de tous nos concitoyens, sur tant de décisions budgétaires qui mettent notre tissu de recherche en péril : loi de finances en forte baisse, annulations de crédits, non versement de crédits votés, suppression de postes. Les restrictions de crédits effectives en 2003 et prévues en 2004 menacent gravement le fonctionnement de nos laboratoires au moment où nos concurrents directs, États-Unis, Japon, principalement, maintiennent ou augmentent fortement leurs efforts.

Nous, qui représentons ici les associations professionnelles scientifiques, et n'avons pour objectif que la qualité de la science de notre pays au service de nos concitoyens, attirons votre attention sur les conséquences désastreuses de cette politique. L'État doit insuffler un élan indispensable à la recherche fondamentale en la finançant au niveau de ce qui est fait dans les grands pays développés. L'avenir scientifique, technologique et industriel de notre pays en dépend.

En espérant que vous serez sensible à la gravité de ce message, nous vous adressons, Monsieur le Président, l'expression de notre plus haute considération,

**Édouard Brézin**

président de la Société Française de Physique

**Jean-Yves Cahn**

président de la Société Française d'Hématologie

**Alain Cozzone**

président de la Société Française de Biochimie  
et de Biologie Moléculaire

**Jean-Antoine Lepasant**

président de la Société Française  
de Biologie du Développement

**François Mathey**

président de la Société Française de Chimie

**Colette Picard pour Michel Théra**

président de la Société de Mathématiques Appliquées et Industrielles

**Geneviève Rougon**

présidente de la Société des Neurosciences

**Catherine Sautes-Fridman**

présidente de la Société Française d'Immunologie

**Michel Waldschmidt**

président de la Société de Mathématique de France

## RÉDACTION

Rédacteur en chef : Bernard Sillion

Rédactrice en chef adjointe :

Séverine Bléneau-Serdel

Secrétaire de rédaction, maquettiste, webmaster : Evelyne Girard

Secrétaire de rédaction, activités de la SFC, manifestations :

Roselyne Messal

Chargés de rubrique : Marika Blondel-Mégrelis (Histoire de la chimie), Yves Dubosc (Livres et médias, Manifestations), V. Nardello-Rataj (Comment ça marche ?), Gilbert Schorsch (Industrie), Pierre Vermeulin (Chimie francophone)

Comité de rédaction : P. Aldebert (CNRS), P. Arpino (div. Chim. anal.), A. Audibert-Hayet (IFP), B. Badet (ICSN), X. Bataille (Histoire des sciences), M. Blanchard-Desce (div. Chim. orga.), M. Blondel-Mégrelis (club Histoire), E. Bordes-Richard (div. Cat.), J. Buendia (SCI), M. Carrega (div. Matér. polym.), G. Chambaud (com. interdiv. Enseignement), N. Cheymol (CPGE), J.-C. Daniel (groupe Formulation, GFP), R.-E. Eastes (ENS), E. Florentin (ENS), J.-P. Foulon (UDP), J. Fournier (club Histoire), Y. Gauduel (div. Chim. phys.), G. Gros (chimie des procédés), J.-F. Lambert (div. Cat.), V. Nardello-Rataj (groupe Formulation), P. Pichat (ADT), A. Picot (Prévention des risques chimiques), P. Rigny (exp. scient.), D. Rutledge (div. Chim. anal.), G. Schorsch (SFC), F. Secheresse (div. Chim. coord.), H. This (INRA-Collège de France), M. Verdagner (UPMC), P. Vermeulin (CNRS), C. Viel, D. Vivien (div. Chim. solide)

Journaliste stagiaire : Colin Droniou

Publication analysée ou indexée par :

Chemical Abstracts, la base de données PASCAL

## ÉDITION

Société Française de Chimie

250, rue Saint-Jacques, 75005 Paris

Tél. : 01 40 46 71 64 - Fax : 01 40 46 71 61

E-mail : ac@sfc.fr - http://www.sfc.fr

Directeur de la publication : François Mathey, président de la Société Française de Chimie

Imprimerie : SPEI, BP 26, 54425 Pulnoy

Maquettage articles : e-Press, Casablanca Technopark, Route de Nouaceur, Angle RS 114 et CT 1029, Casablanca (Maroc)

ISSN 0151 9093

## PUBLICITÉ

EDIF, Le Clemenceau, 102 avenue Georges

Clemenceau, 94700 Maisons-Alfort

Tél. : 01 43 53 64 03 - Fax : 01 43 53 48 00

Chef de publicité : Albert Ederly

edition@edif.fr

www.edif.fr

© SFC 2003 - Tous droits réservés

Dépôt légal : juillet 2003

Toute représentation ou reproduction, intégrale ou partielle, fait sans le consentement de l'auteur, ou des ayants droits, ou ayant cause, est illicite (loi du 11 mars 1957, alinéa 1er 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 2003 - L'ACTUALITÉ CHIMIQUE

(11 numéros par an)

Particuliers : France 85 € - Étranger 90 €

Institutions : France 183 € - Étranger 195 €

Membres de la SFC :

abonnement inclus dans la cotisation

Abonnement : SFC, Nadine Colliot

250, rue Saint-Jacques, 75005 Paris

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

adhesion@sfc.fr

Prix de vente au numéro : 18 € (port inclus)

## Editorial

2

De la Fédération des chimistes... à... la Conférence Pasteur, par **B. Sillion** 2

## Matériaux et biologie

3

### 1<sup>ère</sup> partie

École Galerne 2001 3

Solides mésoporeux d'intérêt biologique, par **Y. Bouligand** 4

Biomimétisme et biocéramiques, par **C. Combes** et **C. Rey** 16

Le tissu osseux : sollicitations mécaniques et remodelage, par **A. Meunier** 27

Intérêt de la fonctionnalisation d'un matériau pour l'amélioration de la relation cellule/support, par **M.-C. Porté-Durrieu**, **J. Amédée** et **C. Baquey** 32

## Enseignement

37

### Les travaux pratiques

Synthèse d'un complexe organométallique : l'allénylidène *trans*-[Cl(dppe)<sub>2</sub>Ru<sup>II</sup>=C=C=CPh<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, PF<sub>6</sub><sup>-</sup>, par **S. Rigaut**, **D. Touchard** et **M. Hissler** 37

## Histoire de la chimie

41

Arsenic et vieilles querelles, par **G. Meyer**, **P. Chevallier** et **I. Ricordel** 41

Un élève de Chevreul : Jacques Arnaudon (1829-1893), co-fondateur et premier président de notre Société, par **J. Fournier** 47

## En direct de l'UIC

53

## Informations générales

54

## Livres et médias

56

## Manifestations

58

Nanocomposites à charges lamellaires et matrice polymère. Compte rendu d'un atelier de prospective, Lyon, 20-21 mars 2003, par **C. Gallet**, **J.-C. Prévôt** et **J.-C. Daniel** 58

Calendrier 63

## Activités de la SFC

64

### Index des annonceurs

<i>Atofina</i>	<i>III<sup>e</sup> de couv.</i>	<i>EDP Sciences</i>	<i>p. 31</i>	<i>Essilor</i>	<i>IV<sup>e</sup> de couv.</i>
<i>EDIF</i>	<i>p. 26</i>	<i>ESIP</i>	<i>p. 62</i>	<i>Galderma</i>	<i>p. 61</i>

Couverture : illustration reproduite avec l'aimable autorisation de Biomet Merck France (<http://www.biometmerck.fr>).

# De la Fédération des chimistes... à... la Conférence Pasteur

**N**otre communauté le sait, le projet de Fédération des chimistes en France a avorté car après maintes réflexions, la SFC ne l'a pas adopté. Dans le même temps, à la satisfaction générale et sans difficulté, naissait une « Fédération des matériaux » à l'initiative de nos amis de la Société Française de Métallurgie et des Matériaux (SF2M), à laquelle s'associent, bien entendu, la SFC et de nombreuses autres associations. Le thème des matériaux serait-il plus fédérateur que celui de la chimie ? Je ne le crois pas... Alors ?

Il me semble que si l'on analyse les raisons qui ont conduit à l'échec dans un cas et qui vont conduire au succès dans l'autre, on voit émerger deux points principaux : les motifs et les statuts.

En ce qui concerne les motifs – je vais essayer sur ce point de ne pas pratiquer la langue de bois ! –, dans le cas de la Fédération des chimistes, on se trouvait en présence de problèmes financiers d'une association et d'une demande impérative de ses bailleurs de fonds industriels que l'on peut résumer par la formule :

« dépenser moins pour avoir plus ! ». Les discussions ont consisté à trouver un argumentaire cohérent pour expliquer l'intérêt scientifique grâce à de probables phénomènes de synergie et à partir de là, chaque association pouvait justifier son existence propre par sa participation à un ensemble qui n'était malheureusement que légèrement plus important.

Dans le cas de la Fédération des matériaux, le problème a été pris d'une manière moins équivoque. Le congrès de Tours a été imaginé, conçu et réalisé sur la base de la participation de pratiquement toutes les sociétés savantes travaillant dans le domaine des matériaux, et devant son très grand succès, il devenait logique de créer une structure de concertation pour maintenir forte cette dynamique.

Venons-en à ce qui concerne les statuts qui reflètent clairement les motivations initiales. Le projet de statuts de la Fédération des chimistes présentait une organisation très structurée avec conseil d'administration, bureau, comité de pilotage..., beaucoup plus proche de celui d'une association que de ce que l'on pouvait attendre d'une simple fédération. A l'inverse, lorsqu'on examine ce

que propose la Fédération des matériaux, on voit une organisation très légère qui est une simple incitation à la concertation des organismes qui en font partie.

Les chimistes arriveront-ils à se regrouper ? Une remarque préliminaire : tous les acteurs le souhaitent. La Fondation de la Maison de la Chimie, qui a depuis longtemps le souci d'aider à un tel rapprochement, propose une formule nouvelle dite « Conférence Pasteur ». Cette idée est très séduisante car cette « Conférence » n'étant plus une fédération de sociétés savantes, le système devient plus ouvert et l'on peut y voir adhérer le CNRS et pourquoi pas les départements d'autres grands organismes dans lesquels la chimie joue un rôle important. Dès lors que des participants de statuts très différents adhèrent, il devient clair que chaque organisme conserve ses particularités, ce qui implique pour que chacun se sente bien, d'éviter les structures lourdes et les hiérarchies !

Ce grand rassemblement pourrait alors être le moteur de réflexions pluridisciplinaires autour de la chimie.

**Bernard Sillion**  
Rédacteur en chef

La rédaction et le comité de rédaction ont élaboré une enquête pour connaître votre opinion sur *L'Actualité Chimique*. Elle est encartée dans ce numéro. Lisez-la, remplissez-la et retournez-la nous vite !

# École Galerne 2001

Créée en 1978 à l'initiative des professeurs J. Rouxel<sup>1</sup>, J. Livage<sup>2</sup> et G. Villeneuve<sup>3</sup>, l'école Galerne a pour vocation de rassembler de jeunes scientifiques (chercheurs et doctorants) autour d'une thématique traditionnellement liée à la chimie, la physico-chimie et la caractérisation des matériaux.

L'école Galerne 2001 s'est déroulée du 23 au 27 septembre à Lucelle, petit village alsacien situé près de la frontière suisse, en présence d'une soixantaine de participants. Elle a été soutenue financièrement par le CNRS, l'INSERM, le Ministère de la Recherche, la Société Française de Chimie (division du solide et section locale), le Conseil général du Haut-Rhin, l'Université de Haute Alsace et l'École Nationale Supérieure de Chimie de Mulhouse, et parrainée par les Sources de Soultzmat, les sociétés Ricola et Rhodia Calligraphie, ainsi que la ville de Mulhouse.

Le programme scientifique de cette école portait sur les **matériaux et la biologie**. En effet, depuis plusieurs années, la communauté scientifique cherche à s'inspirer de la nature pour élaborer de nouveaux matériaux. Par exemple, les squelettes de diatomées, la nacre, les os ... ont fait l'objet de nombreuses études visant à comprendre leur biogenèse afin de s'en inspirer pour élaborer de nouveaux matériaux. En France, cette thématique qui nécessite une approche pluridisciplinaire (chimie, biologie, physico-chimie et physique) est en pleine émergence. Aussi, la présence de représentants de ces différentes communautés, tant parmi les intervenants que dans l'auditoire, a-t-elle rendu cette école particulièrement enrichissante.

La diversité des thèmes abordés reflète, elle aussi, le large champ de connaissances que recouvre ce domaine. Les treize interventions orales ont porté sur les **matériaux du vivant** : H. Arribart (Saint-Gobain Recherche, Aubervilliers), Y. Bouligand (EPHE, Angers) ; **l'approche biomimétique en science des matériaux** : S. Davis (University of Bristol, Grande-Bretagne), V. Ball (CNRS, Strasbourg), C. Rey (ENSCT, Toulouse) ; **les interactions à l'interface bio-minérale** : M.-C. Porté et J. Amédée (INSERM, Bordeaux),

A. Théretz (CNRS/BioMérieux, Lyon) ; **les processus naturels de la minéralisation** : F. Guyot (Université Pierre et Marie Curie, Paris), A. Meunier (Faculté de Médecine Lariboisière-Saint-Louis, Paris) ; **les polymères et la biologie** : S. Corbel (ENSIC, Nancy), J.-F. Gérard (INSA, Lyon) et **l'encapsulation** : J.-N. Barbotin (Université de Picardie, Amiens).

Vous trouverez ici une sélection de plusieurs cours présentés au cours de cette école. Nous remercions l'équipe de *L'Actualité Chimique* de nous permettre de profiter de la large diffusion de leur journal pour promouvoir ces domaines de recherche, parfois émergents et souvent méconnus, auprès de la communauté chimique française, en espérant susciter un intérêt, voire un enthousiasme, comparable à celui des organisateurs, et des participants, de ce Galerne 2001.

**N.D.L.R. : deux autres articles, ceux de V. Ball et de F. Guyot, viendront compléter ce dossier dans le numéro d'octobre.**

#### Le comité d'organisation de Galerne 2001

- J. Brendlé (Laboratoire de matériaux minéraux, ENSCMu, Mulhouse).
- T. Coradin (Laboratoire de chimie de la matière condensée, CNRS, UPMC, Paris).
- B. Lebeau (Laboratoire de matériaux minéraux, CNRS, ENSCMu, Mulhouse).
- C. Marichal-Westrich (Laboratoire de matériaux minéraux, ENSCMu, Mulhouse).
- M. Nardin (Institut de chimie des surfaces et interfaces, CNRS, Mulhouse).

<sup>1</sup>Institut des matériaux de Nantes.

<sup>2</sup>Laboratoire de chimie de la matière condensée, Université Pierre et Marie Curie, Paris.

<sup>3</sup>Laboratoire de chimie du solide, Talence.



Le Centre Européen de Rencontres de Lucelle.

# Solides mésoporeux d'intérêt biologique

Yves Bouligand

## Summary

### Mesoporous solids of biological interest

Many examples of skeletal structures in animals and microorganisms show strong similarities with recently synthesized mesopores, which associate two parts, a mineral one and an organic one, both being strongly interpenetrated at the nanoscopic scale. In the synthetic mesopores, the organic part often consists in a set of elongated micelles, aligned as in certain lyotropic liquid crystals, whereas the inorganic part lies in between. In skeletal structures, the organic part is made either of cell membranes arranged into sets of parallel tubes, or of polymers aligned into a matrix of thin fibrils. In both systems, synthetic or biological, micelles, bilayers or fibrils seem to form a template guiding the mineral deposition. Biomedical applications of synthetic mesopores are expected and the existence of analogues in cells and tissues could be very stimulating to design new bioinspired materials.

## Mots-clés Key-words

**Bio-minéralisations, composites, cristaux liquides, mésopores, pharmacie.**  
**Biomineralizations, composites, liquid crystals, mesopores, pharmacy.**

## Rappels

### Définitions

Les mésopores sont des matériaux hybrides, associant une partie minérale finement ajourée, à l'échelle nanométrique, et une partie organique, distribuée dans les interstices de la partie minérale. Les diamètres de ces canaux ou cavités sont de quelques nanomètres et se situent par convention entre 2 et 50 nm [1]. On rencontre aussi le terme de nanopores pour désigner divers mésopores. Mais des diamètres plus fins ou plus larges interviennent (donnant lieu à des matériaux appelés parfois micro- et macropores). En élevant la température à quelques centaines de degrés, la partie minérale subsiste et conserve souvent les détails de son architecture, alors que la partie organique disparaît. Ces constructions peuvent être le siège de diverses réactions chimiques ou de phénomènes physiques, qui permettent d'envisager de nombreuses applications.

### Historique

Les premières synthèses de mésopores datent de 1992 et un effet de mode s'est manifesté depuis quelques années, avec d'abord une croissance exponentielle du nombre des publications, mais cette progression s'atténue tout en restant importante. On trouvera un bref historique et les principales références dans les travaux de Attard *et al.* [2] ou de Göltner et Antonietti [3], ainsi que bien des perspectives d'applications dans ceux de Stein *et al.* (2000). Pourtant, le sujet peut être considéré comme bien antérieur aux années 90, ainsi que l'indique Behrens [1], et des structures mésoporeuses ou analogues furent décrites sous d'autres noms, en divers matériaux biologiques, dans les cellules et les tissus, animaux ou végétaux. Les mésopores biologiques sont intéressants à considérer, en raison de leur intégration au fonctionnement des organes. Les analogues biologiques

des mésopores présentent souvent des pores de diamètre plus élevé, au-delà de 50 nm et seraient donc des macropores.

### Exemples naturels non biologiques

Il s'agit de minéraux cristallisés, connus sous le nom de zéolithes, dont les plus connus sont des aluminosilicates. Leur structure comporte des canaux ou cavités de diamètre généralement inférieur à 2 nm et ce sont des micropores [4-5]. On y trouve divers cations et de l'eau agencée elle-même de manière polyédrique par le jeu des liaisons hydrogène, sous forme de clathrates, c'est-à-dire de cages autour de ces ions ou de petites molécules ; ces corps servent d'échangeurs d'ions (voir les traités classiques comme [6]). Le terme de zéolithe signifie « pierre qui bout », ceci pour des raisons aisément compréhensibles. On sait également que le carbone peut constituer, à la faveur d'arcs électriques ou d'autres conditions, diverses architectures polyédriques fermées [7], plus ou moins régulières comme les fullerènes, mais aussi des nanotubes [8], que l'on sait aligner en simulant des mésopores, mais plutôt à l'échelle des micropores [9]. On peut également produire avec le carbone graphitique des structures finement réticulées et poreuses [10], avec des géométries proches de celles rencontrées dans les zéolithes.

### Mésopores de synthèse et analogues biologiques

Le mésopore le plus classique aujourd'hui est la « silice en nid d'abeille », dont nous indiquerons plus loin la préparation et les applications espérées. La *figure 1* souligne les différences usuelles entre mésopores de synthèse et mésopores biologiques, mais ces différences iront en s'atténuant, en incorporant de nouveaux ingrédients à ces systèmes.

Vu au microscope électronique par transmission (MET), un mésopore de synthèse [11] présente une structure ordonnée (*figure 1a, 1b*), régulièrement hexagonale, avec peu de

défauts, mais les mécanismes en jeu dans la préparation sont certainement plus complexes que ne le suggère la figure 1c, où l'on voit de la silice colloïdale s'insinuer entre des micelles cylindriques de molécules organiques. Notons cependant que des distributions de pores à échelles variables furent obtenues avec des aluminophosphates lamellaires, à partir de préparations organo-minérales [12]. Au contraire, les mésopores biologiques, comme ceux rencontrés dans les piquants de certains vers marins (figure 1d), comportent des canaux parallèles, mais souvent de diamètre variable, dont la distribution est cependant contrôlée [13]. Les mésopores ou macropores biologiques sont hautement diversifiés dans leurs structures et leurs fonctions et nous en verrons plusieurs exemples. Les informations sur la genèse de ces systèmes biologiques ne manquent pas, mais demeurent partielles, et les gènes concernés n'ont pas encore été identifiés. Le fonctionnement des cellules impliquées n'a pas fait l'objet de toutes les investigations nécessaires. Nous allons reprendre ces questions plus en détail.

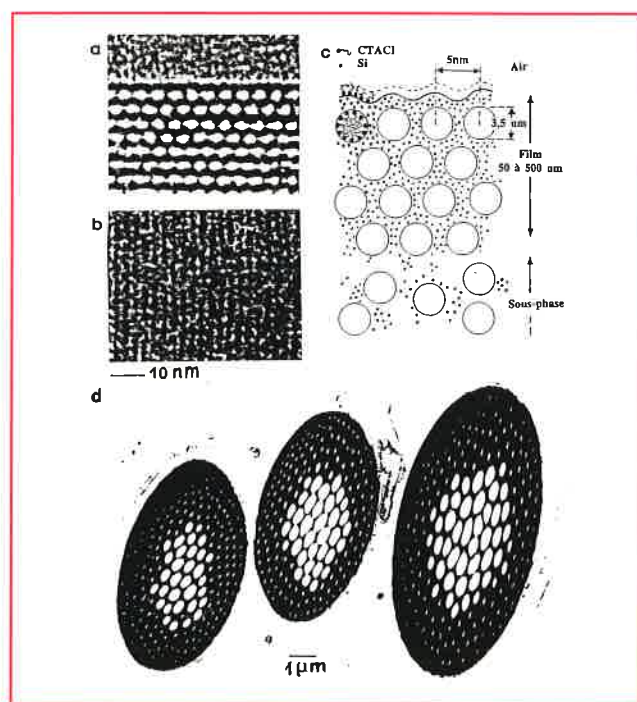


Figure 1 - Mésopores de synthèse (a, b) ou biologiques (d).

**a** : Vue transversale de silice en nid d'abeille en MET, au niveau de l'interface avec l'air. **b** : Vue de dessus d'un film semblable à celui examiné en (a), les cannelures ayant une période moitié de celle définie par un pore et son voisin en (a). **c** : Principe de formation d'un film mésopore, les structures circulaires représentant des micelles cylindriques en coupe. **d** : Coupe oblique de trois soies ou piquants d'un ver marin, *Haplosyllis depressa*. Le diamètre des pores cylindriques est donné par le petit axe des sections elliptiques et il descend au-dessous de 50 nm dans les parties les plus périphériques de la soie. La structure est donc majoritairement macropore, constituée de polysaccharides azotés (chitine) et de protéines, en étant plus ou moins minéralisée. (a-c) d'après [11] et (d) d'après [13].

## La « silice en nid d'abeille »

### Préparation

La production de ce mésopore met en jeu des micelles cylindriques en suspension dans l'eau, qui se maintiennent à égale distance en formant un réseau hexagonal et le système est consolidé en introduisant de la silice amorphe entre ces micelles. Le ciment siliceux peut être obtenu en appliquant la

méthode « sol-gel » de production de matériaux hybrides par hydrolyse d'alcoxydes tels que le tétraéthoxysilane,  $\text{Si}(\text{O}-\text{C}_2\text{H}_5)_4$  ou TEOS, donnant de la silice  $\text{SiO}_2$  qui polymérise sous forme de gel amorphe [11, 14-15]. Ces micelles adoptent souvent l'ordre caractéristique de certains cristaux liquides et, en général, la silice intercalée n'en modifie pas sensiblement la géométrie, sauf divers paramètres tels que les distances mutuelles. Si l'on passe ce genre de préparation dans un four à 450 °C, la matière organique se trouve décomposée et volatilisée. Seule subsiste la silice qui conserve le souvenir de la forme des micelles au niveau de cavités parfaitement dessinées dans les micrographies d'échantillons assez minces.

En pratique, pour préparer de la silice mésopore [11, 16], on utilise le TEOS en présence d'un surfactant cationique, le chlorure de cétyltriméthylammonium,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$  ou CTACl, en milieu acide (HCl). La synthèse associe en proportions molaires : 100  $\text{H}_2\text{O}$  (1 800 g) : 0,11 CTACl (35 g) : 7 HCl (255 g) : 0,07 à 0,13 TEOS (13 à 25 g). On mélange d'abord les trois premiers constituants à la température ordinaire et on ajoute le TEOS en agitant énergiquement quelques minutes. L'ensemble est conservé au fond d'un récipient fermé à 80 °C. Une mince pellicule apparaît en surface au contact de l'air. Son épaisseur est de quelques dizaines de nanomètres après cinq à dix minutes et peut atteindre un demi-micron au bout de quelques jours ou une semaine. Une pellicule similaire se forme à la surface de clivages de micas immergés dans la préparation.

### Structure

Le film obtenu à l'interface de l'air peut être prélevé ou manipulé et se prête à la confection de coupes minces à l'ultramicrotome [11]. Si la section est bien transversale, la structure hexagonale apparaît parfaitement en MET, avec un maximum de contraste aux électrons au niveau de la silice (figure 1a). Quand le film est assez mince pour être déposé sur grille porte-objet, son examen en MET montre l'homogénéité de l'alignement de la structure hexagonale en surface (figure 1b).

Cette structure hexagonale est confirmée par la diffraction des rayons X, qui indique aussi l'état amorphe de la silice. On retrouve les mêmes structures dans les pellicules apparues au contact des micas. L'ordre hexagonal demeure intact après calcination à 450 °C. D'autres traitements furent proposés pour éliminer la matière organique, notamment par chauffage à 160 °C, et extraction dans l'éthanol au soxhlet, précédé ou non d'une exposition à des vapeurs d'ammoniac [16]. Les morphologies de ces systèmes sont parfois simples, comme celles des pellicules de surface dont il a été question, ou bien complexes (figure 2a) en microscopie électronique à balayage (MEB), au moins à première vue, quand on modifie les proportions citées plus haut, en particulier si l'on augmente celle du TEOS [18]. En fait, ces morphologies s'interprètent en supposant l'existence de défauts et de textures semblables à celles observées dans les cristaux liquides colonnaires de type hexagonal [19], comme l'indique la figure 2b et c et les travaux des références [11, 17-18, 20-23].

### Rôle présumé des cristaux liquides dans l'assemblage du mésopore

Ces films mésoporeux à structure interne hexagonale furent comparés aux cristaux liquides lyotropes, constitués de

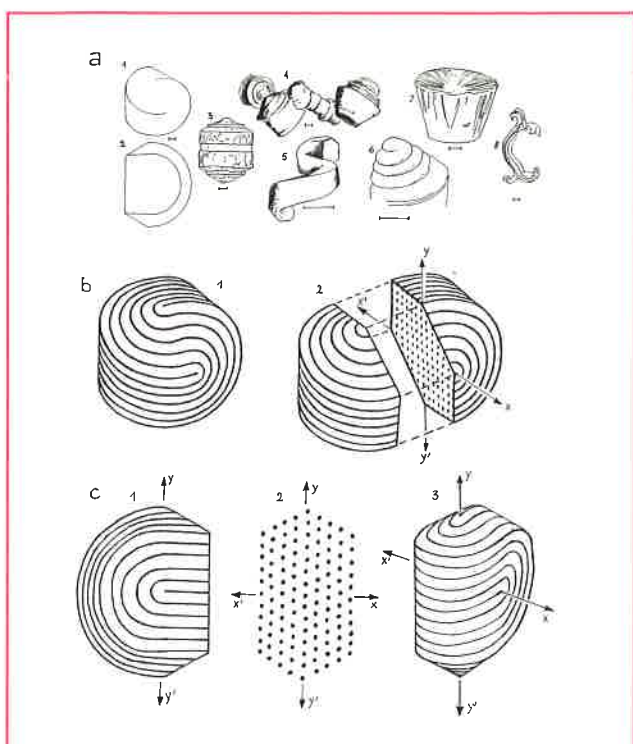


Figure 2 - Mésopores siliceux de formes complexes.

a : Série de huit objets obtenus avec de la silice en nid d'abeille passée au four à 450 °C, dessinés d'après les images en MEB (dans [11]) ; barres : 10 µm. b : Analyse de a1 avec deux disinclinaisons coplanaires d'axes  $xx'$  et  $yy'$  se coupant à 60°. Analyse similaire de a2,  $xx'$  et  $yy'$  se coupant à angle droit. La présence de ces deux textures démontre l'existence d'axes d'ordre 6 dans la structure, que l'on ne peut déduire des diagrammes de diffraction des rayons X, en raison de la centrosymétrie.

micelles cylindriques de molécules amphiphiles [2]. Dans certaines conditions, ces micelles s'alignent parallèlement en donnant un réseau hexagonal en coupe transversale. Il se trouve que le CTACI utilisé dans la synthèse de ce mésopore peut donner une telle phase, dans certaines conditions en présence d'eau, ce qui a suggéré le mécanisme d'assemblage de cette silice en nid d'abeille, conformément à la présentation très schématique de la figure 1c, en vue transversale. Cette hypothèse a donné lieu à discussion car le CTACI supposé former la phase cristalline liquide hexagonale dans l'eau ne la donne pas aux concentrations utilisées dans la préparation du mésopore et, de plus, le TEOS n'est guère soluble dans l'eau. Il est probable que la présence de TEOS modifie les diagrammes de phase, en leur ajoutant une dimension supplémentaire ; il pourrait également interférer avec certains mécanismes de nucléation. Cela a conduit à des interprétations différentes, parfois complexes : plusieurs auteurs ont pensé que la « nucléation » du mésopore comportait une interaction structurante entre silice, surfactant et mica ou un autre substrat comme l'interface avec l'air [11], différente de celle impliquée par l'ordre hexagonal spontané, observé dans les phases cristallines liquides produites par le CTACI dans l'eau et sensibles au pH [2-3, 24]. Les premiers auteurs ont conservé pour partie leur premier modèle, mais se sont ralliés à l'interprétation de type cristaux liquides quand ils ont observé les défauts et textures propres à ces phases, comme nous l'avons indiqué plus haut. Finalement, cet ordre cristallin liquide constituerait bien un guide pour le dépôt de la silice, c'est-à-dire un « template » (en anglais).

Les perspectives d'application de la silice mésoporeuse sont considérables d'après leurs auteurs [2-3, 11, 17, 24]. Elles concernent :

- les techniques de séparation de gaz, de liquides et de certaines molécules biologiques, ainsi que la purification de l'eau ;
- la réalisation de capteurs de macromolécules, de semi-conducteurs [25] ou de revêtement à faible constante diélectrique, de systèmes optoélectroniques, avec photochromes et d'autres composés à comportement optique non linéaire ;
- la constitution de matrices d'adsorption, porteuses de catalyseurs et de modificateurs de réactivité chimique, par divers effets de surface ;
- la création de composites de synthèse, de céramiques et divers biomatériaux ;
- l'encapsulation de médicaments à usage externe ou oral, à disponibilité prolongée [26-27].

### Position centrale de la silice dans l'étude des mésopores

Les mésopores les plus communs ont une fraction minérale faite de silice amorphe, d'origine colloïdale, comme l'opale et d'autres minéraux. La silice colloïdale a toujours fasciné les scientifiques, puisqu'il existe une chimie organique du silicium, mais celle du carbone aurait triomphé au cours de l'histoire géologique en donnant naissance à la vie, alors qu'il y a tant de silice et de silicates disponibles à la surface de la Terre, souvent à l'état colloïdal, et que la silice cristallisée la plus commune, le quartz, présente une forme droite et une forme gauche. Beaucoup de choses restent à étudier sur la polymérisation de la silice amorphe, dans les deux contextes, biologique et non biologique.

La silice est présente dans le squelette de nombreux microorganismes aux morphologies très ouvragées (diatomées, radiolaires etc.) et les analogies avec les mésopores ne manquent pas, ce qui a conduit à plusieurs articles, en particulier celui de Mann et Ozin [28]. Ce qui éveille aussi l'attention est que la silice se trouve à très faible concentration dans l'eau et que les organismes savent la concentrer dans les cellules et en former des concrétions importantes, finement sculptées, dans des conditions physiologiques. En milieu non biologique, au contraire, les processus interviennent souvent dans des conditions physiologiquement inappropriées, en raison de la chimie, ou du pH, ou de la température plutôt élevée, comme au pied des geysers, où la silice amorphe s'accumule sous forme d'opale. La chimie douce et élaborée qui intervient au sein des organismes vivants en permettant des concrétions siliceuses hautement élaborées constitue un nouveau défi pour les chimistes [29-32].

La silice amorphe est connue de longue date comme « durcissant » et il en est question dans les travaux des paléontologistes, quand il faut dégager des fossiles friables. On utilise la « liqueur des cailloux », c'est-à-dire une solution aqueuse de silicate de sodium ( $\text{SiO}_3\text{Na}_2$ ), sel obtenu en chauffant au rouge un mélange dans les bonnes proportions de sable de Fontainebleau (quartz pur,  $\text{SiO}_2$ ) et de carbonate de soude ( $\text{CO}_3\text{Na}_2$ ,  $10 \text{H}_2\text{O}$ ). On obtient ainsi du « verre soluble » que l'on pulvérise dans un mortier, et la poudre obtenue est soluble dans l'eau bouillante. L'addition à froid d'acide chlorhydrique au silicate de sodium en solution redonne la silice sous forme de gel amorphe. On peut conserver en entier un fossile calcaire et complètement



friable, à moitié dégagé, si on le badigeonne avec précaution au moyen d'un pinceau imbibé d'une solution de silicate alcalin. Du silicate de calcium et de la silice amorphe se déposent dans les interstices et donnent un composite résistant, mais il faut du doigté pour ne pas durcir aussi le reste du sédiment que l'on cherche à éliminer.

La silice et les silicates sont omniprésents dans la nature, sous forme immobile dans les roches cohérentes, ou sous forme circulante dans l'eau, les sols et la biosphère. Les trois formes circulantes de la silice ou des silicates dans la nature correspondent respectivement à trois états :

- 1- l'état dissous dans l'eau, à faible concentration ;
- 2- l'état solide, sous forme de poussières transportées par le vent, mais issues des sols et des roches, par les facteurs d'érosion ;
- 3- la fraction non négligeable transportée par les êtres vivants, de nombreux microorganismes, par les vers de terre et bien d'autres espèces dans les sols ; la silice ne manque pas dans la nourriture des animaux et est également présente dans les parois cellulaires de nombreux végétaux.

## Les autres mésopores de synthèse et leurs applications

Parmi les facteurs donnant leur diversité aux mésopores, quatre semblent essentiels :

- la chimie du gel intercalé entre les micelles,
- la chimie de la phase cristalline liquide,
- la nature de la phase cristalline liquide constituant le moule ou « template »,
- la texture adoptée par cette phase, c'est-à-dire les défauts et le découpage en domaines.

Ces quatre facteurs pourraient conduire à une classification, mais elle est peut-être prématurée parce que rien ne prouve encore que l'autoassemblage soit strictement de type cristallin liquide, avec d'autres processus importants encore ignorés ou sous-estimés, les recherches n'étant qu'à leur début, avec des surprises en perspective. Pour l'instant et à défaut de mieux, ce principe de classification garde sa logique et nous nous y tiendrons.

A la place de la silice, on a introduit du sulfure de cadmium, du sélénure de cadmium [24], des alumino-phosphates [13], du phosphate de calcium [28] ou du platine colloïdal [3], etc. Au lieu d'un surfactant cationique, on a pris des amphiphiles non ioniques produisant aussi des phases hexagonales en présence d'eau, ce qui permet, en les associant aux sels de cadmium considérés plus haut, de créer un semi-conducteur pour des applications photocatalytiques et photosynthétiques [24]. De même, un amphiphile non ionique fut associé sous forme hexagonale à du platine colloïdal, pour en améliorer les propriétés catalytiques, en lui conférant une forme mésopore [3].

Au lieu de micelles cylindriques produites par assemblage de surfactants, on a eu recours à des copolymères associant une chaîne soluble dans un solvant et une chaîne qui ne l'est pas. Ces deux blocs reliés, mais incompatibles quant à la solubilité, ou bloc-copolymères, produisent aussi des cristaux liquides et beaucoup d'entre eux le font en présence d'eau. Ils furent adoptés pour la synthèse de nouvelles variétés de silice mésopore, en changeant le diamètre et la forme des pores. Plus récemment, des tribloc-polymères furent utilisés pour construire des silices à très larges pores [33].

Les structures cristallines liquides furent également modifiées et, au lieu de phases hexagonales, on a examiné

ce qui se passait en phase lamellaire [13] ou dans des systèmes micellaires réticulés [28]. Pour les premières, on parle de corps mésolamellaires. On peut discuter de savoir s'il s'agit de véritables mésopores, puisque les canalicules sont remplacés par des cavités de formes et connexions différentes. Mais l'interpénétration des fractions minérale et organique demeure intime dans ces structures qui sont considérées dans les mêmes articles que les mésopores classiques.

Pour ce qui est de la texture, c'est-à-dire les distorsions, les défauts et la distribution en domaines, nous avons déjà abordé le problème dans la *figure 2* et le reprendrons plus loin. La silice mésopore présente soit un alignement uniforme de ses pores canaliculaires, soit des dispositions fortement recourbées, et ceci suivant la proportion du TEOS rapportée à celle du surfactant, mais sans avoir changé la phase qui est hexagonale [22]. Disons que la question des défauts et des textures est d'un abord complexe et, en même temps, c'est d'elle en grande partie que dépendra la mise en œuvre des applications. La plus immédiate d'entre elles concerne l'analyse plus approfondie des défauts et textures des cristaux liquides eux-mêmes, que nous considérons dans le paragraphe suivant. Le deuxième type d'application se baserait sur une meilleure approche des mésopores biologiques, parce que leur diversité réside surtout dans la texture et leur intégration fonctionnelle. Les autres applications sont à espérer très nombreuses dans le domaine biomédical, avec des barrières psychologiques importantes à franchir, en raison de ces systèmes minéraux encore rares dans la pharmacopée. Le point le plus prometteur pour les perspectives pharmaceutiques est que beaucoup de mésopores permettent la nanoencapsulation de médicaments et constituent aussi des céramiques utilisables dans des dispositifs nanoélectroniques. Le but serait de délivrer un médicament encapsulé dans des nano- ou microparticules véhiculées par la circulation du sang, quand celles-ci se trouvent à proximité des cellules ou des tissus cibles. Il faudrait donc concentrer dans ces particules la nanoélectronique permettant la reconnaissance de signaux complexes, caractéristiques de l'environnement cellulaire ou tissulaire, et le déclenchement de mécanismes de libération du principe actif. Il s'agit de science-fiction, mais les nanotechnologies progressent très vite.

## Les mésopores, outils de visualisation de détails texturaux

L'examen des mésopores de synthèse ou de ceux d'origine biologique nous a permis de comprendre le rôle de « template » souvent assuré par les cristaux liquides, surfactants ou polymères, ou par des membranes cellulaires également cristallines liquides. Les cristaux liquides peuvent s'ordonner selon des motifs à grande distance bien étudiés au microscope polarisant, appelés textures [19, 34-39]. Nous avons vu le parti que l'on peut retirer de l'examen morphologique de certains mésopores pour analyser des défauts semblables à ceux des cristaux liquides colonnaires hexagonaux (*figure 2b, 2c*). Il existe des textures dont les dimensions des domaines se situent dans une gamme d'échelles accessibles seulement en microscopie électronique, et les méthodes de préparation actuelles (cryofracture, cryomicroscopie électronique) ne sont pas toujours appropriées. Les mésopores en l'on peut en retirer, passés au four et pulvérisés en morceaux assez fins pour être transparents aux électrons, permettront peut-être d'accéder aux détails

texturaux qui nous manquent, notamment ceux des régions se situant au cœur des défauts et dont l'étude est à peine esquissée dans les cristaux liquides. Leur examen se ferait donc dans des conditions assez éloignées de celles qui règnent dans une phase cristalline liquide, mais ne manqueraient pas d'intérêt pour autant.

## Les principaux mésopores et macropores biologiques

On trouvera réunies dans le livre publié par Simpson et Volcani [40] un bel ensemble d'articles généraux sur la silice dans le monde vivant, avec tous les types de microsquelettes qu'elle constitue. Ce minéral est très répandu dans certains groupes animaux et végétaux, ainsi que chez beaucoup d'espèces unicellulaires. La bibliographie récente a été analysée par Coradin dans *Biomimétisme et Matériaux* [41], avec plusieurs autres chapitres essentiels notamment sur les phosphates de calcium par Lebugle et Rey (2001).

### Le squelette siliceux des diatomées et des radiolaires

Lorsque les structures siliceuses sont très minces, comme chez les diatomées (algues unicellulaires), on peut les observer directement en MET et les pores présentent souvent une organisation hiérarchisée, avec deux échelles de diamètres (*figure 3*). Les plus petits pores font 20 nm de large (*figure 3a*) et on est encore dans la gamme des mésopores, mais ils peuvent être allongés et dépasser 50 nm selon le plus long diamètre (*figure 3a, 3b*). Les pores plus larges atteignent 1 à 3  $\mu\text{m}$  de diamètre (*figure 3c*) chez beaucoup de diatomées et sont visibles au microscope à lumière, mais les petits pores de 100 nm ne sont pas résolus dans les mêmes conditions (*figure 3c*). L'origine de ces pores reste la même semble-t-il, que l'on soit dans la gamme des macropores ou celle des mésopores. La silice amorphe

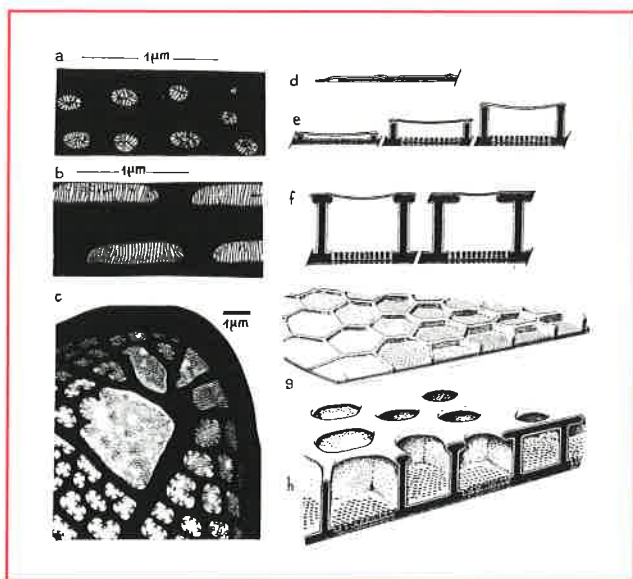


Figure 3 - Test siliceux de diatomées.

**a-c** : Valves de *Cocconeis* (a, b) et *Achnanthes* (c) en MET (d'après [40]). **d-f** : Schéma du développement des valves siliceuses de *Thalassiosira eccentrica*. La silice (en noir) est déposée au contact de membranes cellulaires. Des pores sont construits à deux échelles distinctes. **g-h** : Reconstitution 3D de la valve en cours de formation et terminée (d'après [40]).

est produite au contact d'une bicouche membranaire qui se plisse selon un dessin précis, contrôlant la forme définitive de la sécrétion minérale. On pourrait imaginer l'inverse, avec la membrane qui suivrait des formes différenciées directement par la silice, mais cela ne paraît pas vraisemblable étant donné l'aptitude des membranes à produire des morphologies complexes [42], alors que l'on ne connaît pas de propriétés similaires pour la silice.

La silice est présente sous forme hautement fenêtrée chez bien d'autres organismes unicellulaires, comme les chrysophycées, mais les pores dépassent en général 100 nm de diamètre et chez les radiolaires, ils varient d'un à plusieurs dizaines de  $\mu\text{m}$ . Ces édifices sont remarquablement organisés comme l'indique la *figure 4*.

Les réseaux peuvent être hiérarchisés (*figure 4d*), mais les mailles les plus fines sont résolues avec les microscopes à lumière. On est donc dans le domaine des macropores chez les radiolaires, mais la formation du squelette siliceux se fait encore au contact d'une bicouche membranaire.

On trouvera dans l'ouvrage de Simpson et Volcani [40] des indications sur la mise en place des premiers éléments du test des diatomées à l'intérieur de vésicules très aplaties, limitées par une membrane cellulaire spécialisée ou silicalemme, avec certaines ATPases impliquées dans le métabolisme de la silice.

Les recherches récentes sont focalisées sur les protéines telles que les pleuralines, les frustulines etc., ou divers peptides souvent cationiques, extraits des diatomées, dont on démontre l'aptitude à précipiter la silice à l'état amorphe. Des bloc-polypeptides inspirés de ces recherches permettent la synthèse biomimétique de silice mésopore. Des polyamines variables d'une espèce à l'autre sont susceptibles de modifier la morphologie du test. Pour la bibliographie, on se reportera à Coradin (2001), ainsi que Kroger *et al.* [44-48].

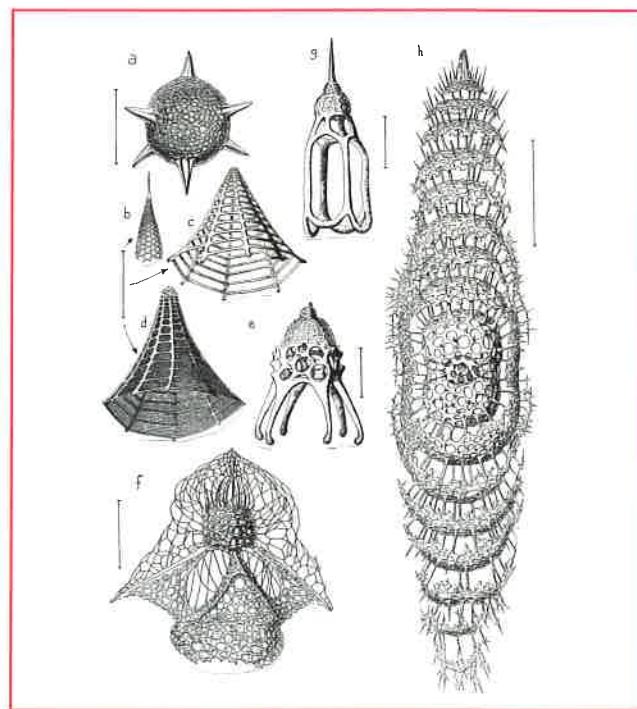


Figure 4 - Squelette siliceux de radiolaires.

**a** : *Hexastylus dimensibus*, avec la symétrie d'un octaèdre. **b** : *Cornutella hexagonella*. **c** : *Bathropyramis trapezoides*. **d** : *Plectopyramis trapezomma*. **e** : *Alacorys guilelmi*. **f** : *Pteropilium clathrocanium*. **g** : *Cladophora goetheana*. **h** : *Zygartus chrysalis* (d'après [43]). Barres : 100  $\mu\text{m}$ .

## Les spicules d'invertébrés

Lorsque la silice forme des agrégats massifs et durs, la technique des coupes fines est généralement impraticable. Elle fut pourtant appliquée avec succès chez certaines éponges, au moyen de couteaux de diamant montés sur ultramicrotome [40]. Beaucoup d'éponges doivent leur consistance à un dense réseau de collagène, une protéine fibreuse fort répandue dans le règne animal, et à la présence de concrétions minérales, appelées spicules, souvent en aiguilles, ou présentant des formes originales, différentes d'une espèce à l'autre, ramifiées ou non, avec divers ornements (*figure 5a-f*). Les spicules sont calcaires chez certaines éponges, mais siliceux chez la plupart des autres, sauf celles dépourvues de spicules, comme l'éponge de toilette.

Certains spicules siliceux présentent un filament axial (*figure 5g*), d'un tiers de micron de diamètre en général, montrant sur coupe transversale un réseau hexagonal d'espaces clairs de 2 nm de diamètre environ, distants de 3 nm centre à centre (*figure 5h*), bien résolus en MET. En coupe longitudinale, on observe parfois une striation de 10 à 12 nm de période (*figure 5i*). La matière du spicule autour du filament axial est souvent perforée de canaux curvilignes et plus larges (~10 nm).

La présence de silice dans ces réseaux a été vérifiée en examinant l'action de l'acide fluorhydrique sur des coupes minces de 50 nm d'épaisseur environ et par des méthodes analytiques locales (microsonde de Castaing). L'observation d'un résidu structuré au terme de l'attaque acide permet de supposer la présence d'un template au niveau du filament axial (Garrone *et al.* dans [40]). S'agit-il d'une phase micellaire hexagonale, comme dans les mésopores de synthèse, constituée de molécules amphiphiles, proches de celles des membranes cellulaires, ou d'une trame organique fibreuse ? Les canaux de 2 nm de diamètre paraissent un peu étroits pour admettre l'hypothèse micellaire. On sait de plus que des protéines fibreuses de ces éponges, les silicatéines, interviennent effectivement dans la construction du réseau de silice (cf. [41]).

La classification des mésopores de synthèse s'étend aux mésopores biologiques. Sur la *nature du minéral*, disons que la silice est souvent remplacée par du carbonate de calcium, pour de nombreux spicules, et pas seulement chez certaines éponges, mais aussi chez beaucoup d'invertébrés marins [40-41, 51].

La calcite ou l'aragonite des espèces unicellulaires ou invertébrées, de même que ces formes minérales obtenues *in vitro*, en l'absence de cellules, présentent un aspect poreux lorsqu'elles sont examinées à haute résolution sur échantillon mince et qu'un certain axe cristallographique est bien aligné sur le faisceau d'électrons [52-53]. Mais les « pores » sont distants de 4 Å environ, soit à peu près dix fois plus serrés et petits que ceux décrits dans les mésopores. Ces structures sont strictement cristallines et se situent dans la gamme minimale des micropores. Leur contraste provient uniquement de la structure rhomboédrique de la calcite ou de celle orthorhombique de l'aragonite, mais la matière organique ne paraît pas entrer dans leur constitution, en première approximation.

Très généralement, chez les invertébrés, les spicules sont produits à l'intérieur du cytoplasme, au sein d'une vésicule limitée par une membrane cellulaire. Ainsi, le template ne se limite pas à une trame organique interne ou à un système de micelles, mais comporte une membrane

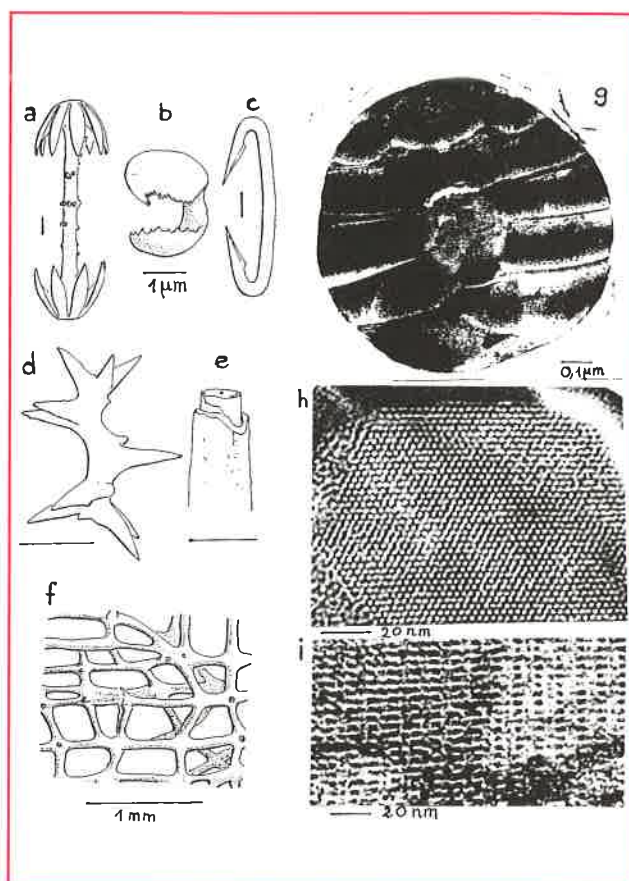


Figure 5.

a-f : Divers spicules siliceux d'éponge, examinés en MEB ; leurs noms sont au moins aussi extraordinaires que leurs formes. a : Amphidisque de *Hyalonema sieboldii*. b : Bipocillum de *Lophon pattersoni*. c : Diancistron de *Hypsisspongia popana*. d : Microscière de *Spirastrella coccinea*. e : Spicule brisé d'*Ephydatia fluviatilis*. f : Réseau siliceux de *Farrea facunda*. g-h : Jeunes spicules de *Haliclona* (mégascières) vus en coupe en MET. g : On distingue le filament axial de contour hexagonal. h-i : Coupes transversale et longitudinale du filament axial. a-d, f dessinées d'après W.D. Hartman ; e, g-i d'après R. Garrone, T. Simpson et J. Pottu-Boumendil [40]. Sauf indication contraire, les barres représentent 10 µm.

cellulaire dont la morphologie guide le dépôt minéral, plutôt que l'inverse, comme nous l'avons déjà indiqué pour les diatomées.

Nous avons évoqué des templates lamellaires à propos des mésopores de synthèse. Leur existence paraît probable chez beaucoup d'organismes, mais la question n'est pas toujours simple : le spicule d'éponge de la *figure 5e* montre une cassure suggérant un clivage facile selon des couches cylindriques emboîtées, comme peuvent l'être les couches smectiques de CTACl lorsqu'elles forment des textures myéliniques dans l'eau, ainsi que de nombreux cristaux liquides lyotropes. Ces clivages selon des cylindres coaxiaux sont remarquables dans le spicule d'ancrage d'une éponge du genre *Monoraphis*, découverte à un peu plus de mille mètres de fond au large des côtes de Somalie, avec un spicule de 3 m de long et 1 cm de diamètre. Le spicule de ces éponges fut étudié par Lévi et Barton, des spongiologues, et par Guillemet à Saint-Gobain (voir [54]) sur des exemplaires de Nouvelle Calédonie avoisinant un mètre de longueur et quelques mm de diamètre, parfois transparents comme le verre, mais beaucoup plus souples, et constitués de silice amorphe.

On peut proposer deux hypothèses : soit la présence d'un template de type smectique gonflé, c'est-à-dire formé de bicouches presque équidistantes, séparées par de l'eau, comme dans une forme myélinique, laquelle accueillerait de la silice amorphe, l'eau étant presque intégralement remplacée par la silice. Les bicouches smectiques, si elles existent, constitueraient un lubrifiant, n'altérant pas la dureté de la silice. Au contraire, ces fines lamelles cylindriques intercalaires, au lieu d'être des bicouches, pourraient être constituées par une trame organique de type silicatéine. La recherche demeure ouverte et difficile. Elle est à entreprendre sur des espèces moins rares que les *Monoraphis*, susceptibles d'être maintenues en élevage et dont les spicules présentent des clivages cylindriques similaires, comme dans la figure 5e.

Les figures 5 a-f nous permettent d'entrevoir la complexité des textures et des questions qui s'y rapportent. Dans ces spicules d'éponge, la structure est souvent mésoporeuse au niveau axial et plus ou moins lamellaire à la périphérie, les branchements latéraux impliquant la présence de défauts, dont l'ordonnance est vraisemblablement sous le contrôle des cellules. Des spicules existent en d'autres groupes, chez les didemnidés (tuniciers) et chez les échinodermes (oursins, étoiles de mer, ophiures, crinoïdes), mais sont principalement calcaires [55].

Ces concrétions prennent un développement considérable chez les oursins et d'autres échinodermes, en formant des plaques jointives ou des piquants. Très généralement dans ce groupe, les spicules, les plaques et les piquants sont constitués chacun d'un monocristal de calcite, ajouré par la pénétration du cytoplasme [56], qui en reste toutefois séparé par une bicouche membranaire. On sait qu'il s'agit d'un monocristal parce que chacune de ces plaques, lorsqu'elle est suffisamment mince et transparente, s'éteint d'un seul coup, entre polariseurs croisés, quand on tourne la platine du microscope polarisant. On le vérifie également en diffraction des rayons X pour de plus gros échantillons.

Ces monocristaux vermiculés forment des systèmes bicontinus, associant le monocristal multiples fois connexe et le cytoplasme qui le pénètre, adoptant lui-même la connectivité complémentaire, également multiple (figure 6a). Parmi les formes les plus remarquables de ces monocristaux de calcite, il y a certaines plaques où la bicouche membranaire forme une surface triplement périodique, à courbure moyenne proche de zéro (figure 6b-c), comme on en trouve dans certains cristaux liquides lyotropes, cubiques, bicontinus et gonflés. Il en existe d'autres exemples biologiques et leur structure est rappelée sur la figure 6d inspirée de [57]. Les aspects géométriques et topologiques des membranes cellulaires susceptibles de servir de template sont discutés dans deux articles, dont l'un de revue, où nous avons rassemblé les principales références [42, 58]. Nous ignorons s'il existe un couplage ou non entre certains axes de la calcite et ceux du réseau cubique formé par la membrane dans ces structures squelettiques des échinodermes. Les rapports entre calcite et cytoplasme sont représentés schématiquement en coupe (figure 6e).

### Mésopores biologiques peu ou pas minéralisés

La matière squelettique de type mésopore ou macropore peut être strictement organique. L'exemple nous en est fourni par les soies des vers marins considérés en introduction dans la figure 1. Le constituant principal en est la chitine,

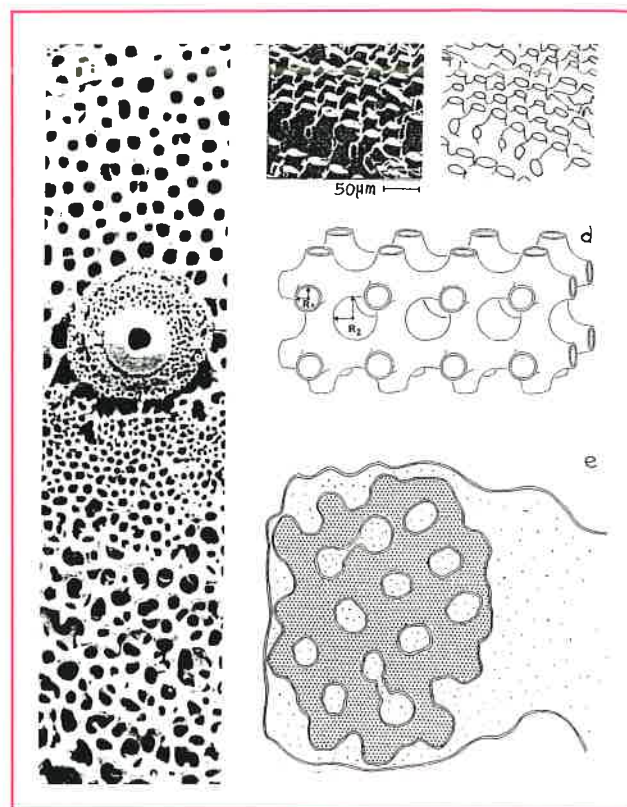


Figure 6.

Les plaques et les piquants du squelette des oursins associent une phase cristalline continue, multiples fois connexe, et une phase aqueuse qui l'est également, les deux étant séparées par une membrane cellulaire, analogue d'une phase cristalline liquide lyotrope de type éponge (a) ou cubique (b). a : Vue au MEB du squelette d'un oursin, avec un tubercule où s'articulait un piquant, retiré ici (d'après [55]). Un même cristal de calcite forme chaque plaque ou chaque piquant, mais ce monocristal est vermiculé par des cavités qui communiquent et sont pénétrées de cytoplasme. b : Fracture d'une plaque de calcite de l'oursin *Cidarid rugosa*, d'après [56]. c : Dessin interprétatif de b. d : Schéma du type de surface observée en b, définie par une courbure moyenne constante nettement inférieure en valeur absolue aux deux courbures principales maximales, correspondant aux rayons R1 et R2. e : Schéma en coupe d'une plaque monocristalline de calcite, avec son réseau (représenté par une trame hexagonale) pénétré par le cytoplasme (en pointillés beaucoup plus espacés), dont il est séparé par une bicouche figurée par une bicouche.

un polysaccharide azoté que l'on retrouve dans les parois cellulaires des champignons, dans la carapace des arthropodes (insectes, crustacés, mille-pattes, etc.), ainsi que chez bien d'autres invertébrés. La chitine est alignée parallèlement à l'allongement des soies de ces vers et est associée à des protéines. Le template des canaux longitudinaux observés sur coupe est assuré par une cellule appelée chéto-blaste, qui forme une plage de microvillosités, c'est-à-dire des digitations parallèles, allongées, cylindriques ou coniques de cytoplasme fibrillaire, limitées par une bicouche membranaire [12].

On connaît des gènes impliqués dans la formation de telles microvillosités, en particulier dans les cellules absorbantes de l'intestin, mais ce genre de recherche n'est toujours pas entrepris dans ce type de cellule productrice d'une structure « épineuse ». La sécrétion se fait entre les microvillosités, principalement à leur base, et par d'autres cellules latérales de la soie qui apportent de nouveaux matériaux entre les fibrilles déjà déposées. Ces processus sont présentés en microscopie électronique sur coupe dans la figure 7.

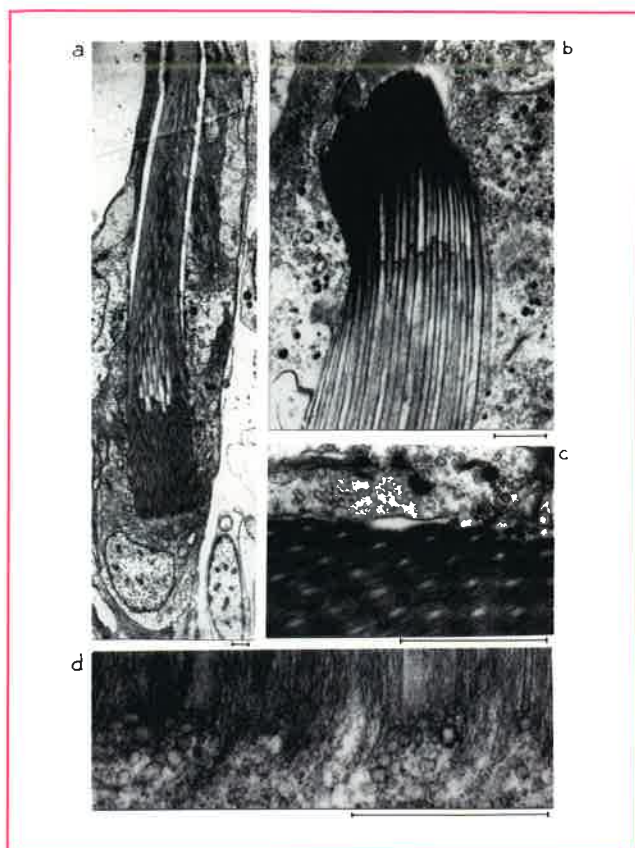


Figure 7 - Coupes ultrafines de soies d'un ver marin, *Haplosyllis depressa*, montrant la formation de ce mésopore ou macropore naturel, guidée par un ensemble de digitations cytoplasmiques ou microvillosités, chargées d'un contenu fibreux, probablement de l'actine [13].

a : Vue générale d'une soie en coupe presque longitudinale, avec la cellule à sa base, ou chétoblaste, et ses microvillosités directrices, ainsi que des cellules latérales très actives, qui viennent compléter la sécrétion entre les fibrilles d'une matrice produite par le chétoblaste. b : Une jeune soie, plus agrandie, avec ses microvillosités en coupe exactement longitudinale. c : Détail d'une cellule latérale au contact d'une soie témoignant d'une forte activité de sécrétion. d : Fusion de vésicules avec la membrane cytoplasmique située à la base des microvillosités. Barres : 1  $\mu\text{m}$ .

Une représentation tridimensionnelle de ces processus est indiquée sur la *figure 8*. Un quart seulement de la base de la soie est indiqué, montrant ses relations avec la cellule de base, munie de microvillosités qui guident la sécrétion, et celles aussi avec les cellules latérales très actives.

Certaines microvillosités se différencient pendant que d'autres disparaissent et leur diamètre varie également. Ces processus sont programmés et déterminent les formes souvent complexes des soies, fidèlement reproduites chez les individus, d'une génération à la suivante.

### Un composite de type mésopore : la carapace des crabes

Les crabes et la plupart des crustacés de grande taille sont enfermés dans une carapace rigide, qui est souple et mince au niveau des articulations. La structure d'un fragment de carapace et de son épiderme sécréteur est représentée sur la *figure 9*.

La croissance des crabes, comme celle des autres crustacés et arthropodes, se fait par mues successives et le problème est de se créer un nouvel habit plus grand, sous un autre plus

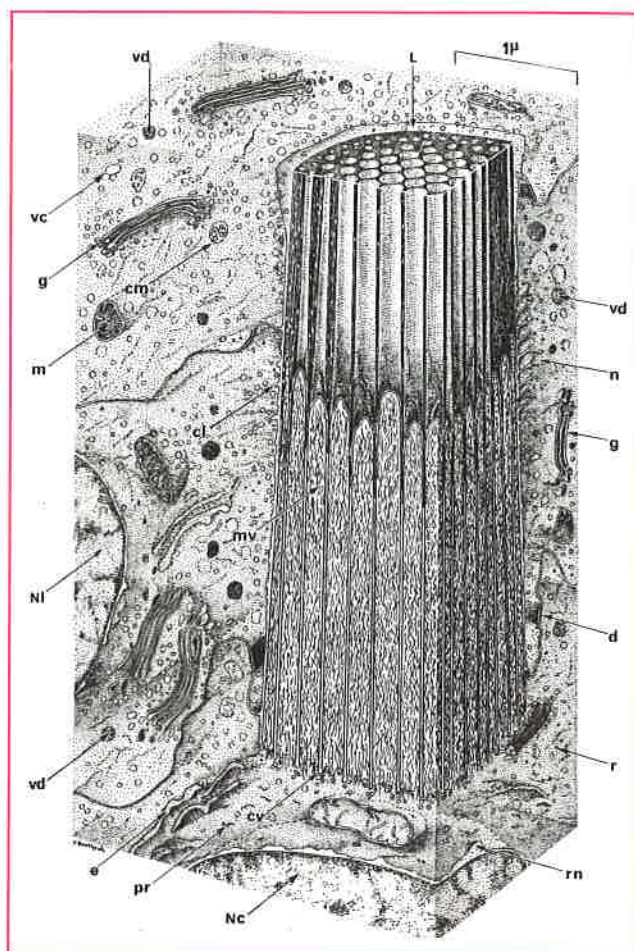


Figure 8 - Reconstitution dans un secteur de 90° des principales structures cellulaires à la base d'une soie de ver marin (*Haplosyllis depressa*) et dans les premières cellules latérales.

cm : corps multivésiculaire, cl : communication entre vésicule et espace extracellulaire au contact de la soie. cv : communication entre une vésicule et l'espace séparant deux microvillosités voisines. d : structure de jonction entre cellules. e : ergastoplasme, g : corps de Golgi, L : espace latéral dû au décollement des cellules périphériques. m : mitochondrie, mv : microvillosité, n : cytoplasme différencié en nid d'abeille, au niveau des premières cellules latérales. Nc : noyau du chétoblaste, NI : noyau d'une cellule latérale, pr : polyribosome ou polysome, r : ribosome, rn : replis latéraux du feuillet externe de l'enveloppe nucléaire, vc : vésicules claires aux électrons, vd : vésicules denses aux électrons (d'après [13]).

ancien, devenu trop petit. Pour y parvenir, l'épiderme constitué d'une seule couche de cellules se décolle de la face interne de l'ancienne carapace, et la plupart de ses cellules entrent en mitose, ce qui double à peu près leur effectif, ainsi que la surface de l'épiderme. De ce fait, celui-ci se plisse et débute la sécrétion d'une nouvelle carapace qui restera souple jusqu'à la mue. Certaines cellules de l'épiderme sécrètent entre l'ancienne et la nouvelle carapace des enzymes et divers sucres qui érodent et digèrent les couches les plus profondes de l'ancienne carapace, sur une épaisseur plus ou moins importante selon les régions.

La construction de la nouvelle carapace commence par le dépôt d'une « épicuticule », c'est-à-dire un revêtement imperméable, sauf à la base des poils ou au niveau de certains pores. Cette épicuticule a la structure d'un mésopore, sauf dans sa pellicule la plus externe, et les tubes y sont orientés normalement à la carapace [60]. La nature chimique de cette épicuticule est encore mal connue (lipides complexes et protéines).

Sous l'épicuticule se déposent alors la couche pigmentaire, constituée de filaments cristallins orthorhombiques de chitine, polymère d'acétyl-glucosamine (figure 10a), de 2 nm de diamètre [61], associés à des protéines agencées de manière hélicoïdale [62]. Ces baguettes (figure 10b) enrobées de leur ciment protéique sont agrégées en fibrilles (figure 10c) et forment un ensemble réticulé (ou anastomosé), avec une direction moyenne locale des fibrilles bien définie (figure 10d). A plus grande distance, on constate que ces fibrilles présentent un ordre cholestérique [34, 63], c'est-à-dire que, si  $x$  et  $y$  sont deux axes parallèles au plan de la carapace,  $z$  l'axe local, normal à cette carapace,  $p$  la longueur d'un pas hélicoïdal orienté selon  $z$ , et  $n$  un vecteur unitaire parallèle à l'orientation locale des fibrilles, ses trois composantes vérifient :

$$n_x = \cos 2\pi z/p, n_y = \sin 2\pi z/p, n_z = 0$$

La véritable période selon  $z$  est  $p/2$ , parce que les fibrilles ne paraissent présenter aucune polarité (figure 11a). On retrouve donc la structure d'un cristal liquide cholestérique, mais non fluide. Des cristaux liquides cholestériques ont été obtenus *in vitro* à partir de ces cristallites de chitine fragmentés en baguettes, de rapport longueur/largeur proche de 20, et traités en surface de manière à être fortement polyélectrolytes [64]. *In vivo*, la sécrétion semble se produire sous forme cristalline liquide, avec  $n$  parallèle aux membranes cellulaires externes de l'épiderme, et un processus de stabilisation viendrait rapidement abolir le caractère fluide initial de cette sécrétion, mais la nature précise des mécanismes en jeu reste à établir.

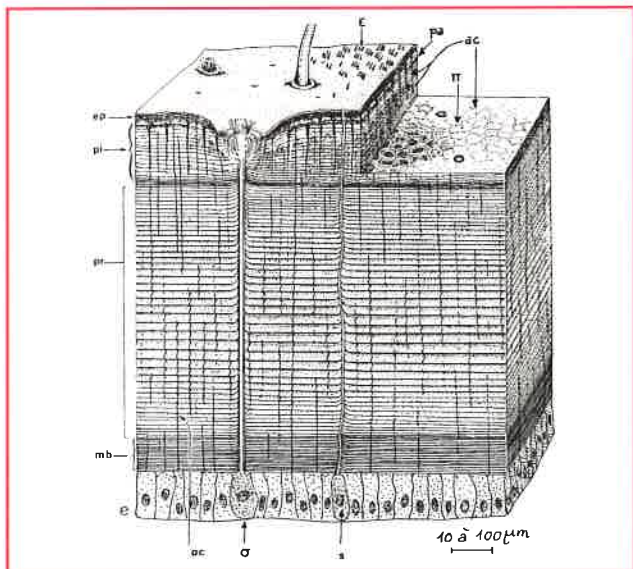


Figure 9.

Fragment de carapace de crabe, avec son épicuticule (ep) formant divers types de poils et denticules (e) et la couche pigmentaire (pi), qui présente en de nombreuses régions des cloisons prismatiques que l'on voit en coupe horizontale dans la partie droite, et dont les positions correspondent aux limites des cellules de l'épiderme (e), lors de la sécrétion de la (pi) avant la mue. Viennent ensuite la couche principale (pr), plus développée, et la couche membraneuse (mb), toutes deux déposées après la mue. Des phosphatases alcalines (pa) sont présentes dans la (pi), juste sous (ep), et de l'anhydrase carbonique au niveau des cloisons (p). L'ensemble des couches (pi), (pr) et (mb) est stratifié avec une géométrie cholestérique (figure 11a) et est traversé de fins canaux (pc : pore canals) contenant chacun un prolongement cylindrique du cytoplasme épidermique. Les couches (pi), (pr) ou (mb) sont stratifiées et leur épaisseur correspond à un demi-pas hélicoïdal de l'arrangement des fibrilles chitino-protéiques, c'est-à-dire une rotation de  $180^\circ$  (voir figures 10 et 11). Une ou plusieurs cellules ( $\sigma$ ) se trouvent à la base de chaque poil et d'autres cellules (s) sont munies de canaux sécréteurs qui traversent même l'épicuticule [59].

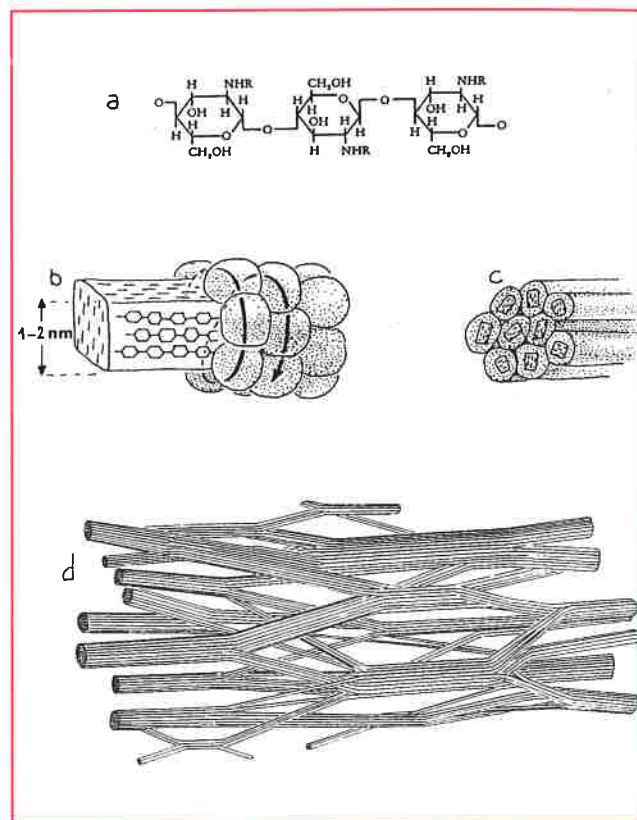


Figure 10.

a : Formule de la chitine, polysaccharide azoté, polymère d'acétylglucosamine ( $R = \text{CH}_3\text{CO}-$  ou acétyle), b : Cristallite orthorhombique de chitine (filament) entouré de protéines agencées en hélice en formant une microfibrille (d'après [62]). c : Fibrilles résultant de l'association de quelques microfibrilles. d : Distribution des microfibrilles dans la couche principale des carapaces des crustacés supérieurs (le dessin est à dilater en longueur, pour une plus juste représentation mais, de cette façon, on voit mieux les branchements, d'après [36]).

Cet ensemble de l'épicuticule et de la couche pigmentaire est déposé avant la mue et constitue la carapace préexuviale. Elle est relativement mince par rapport à ce que sera la carapace définitive et elle est encore souple, mais non extensible dans les conditions physiologiques. Le crabe entreprend alors de se dépouiller de son ancienne carapace, et y parvient en ingérant des quantités d'eau suffisantes, ce qui le gonfle en dépliant la nouvelle carapace [65]. Les produits d'altération de l'ancienne carapace paraissent former un lubrifiant qui facilite la mue, dans son aspect « déshabillage ». Quand cette mue est terminée, la minéralisation de la nouvelle carapace complètement dépliée peut commencer, ce qui lui donne rapidement une consistance parcheminée, puis résistante, alors qu'un nouveau dépôt chitino-protéique débute avec une géométrie cholestérique, cette sécrétion étant à son tour rapidement stabilisée sous forme d'un réseau de fibrilles non fluides, avant d'être minéralisée. Pour les couches préexuviales ou postexuviales, c'est-à-dire déposées avant ou après la mue, le minéral est principalement du carbonate de calcium sous forme de calcite en général.

La carapace est doublement un composite, d'abord au niveau des baguettes de chitine localement parallèles, qui sont serties dans un ciment de protéines en formant divers types d'agrégats fibrillaires [61], selon leur localisation (figure 11).

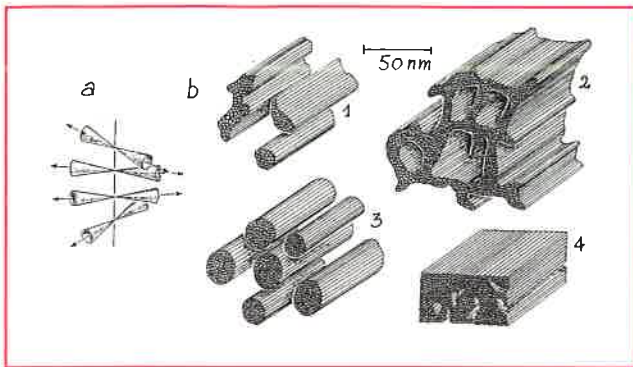


Figure 11.

a : La carapace, une fois débarrassée de sa matière calcaire par un acide ou un chélateur, devient souple ; elle est constituée de fibrilles chitino-protéiques qui suivent des orientations semblables à celles adoptées par les molécules dans les cristaux liquides cholestériques, mais le caractère liquide est aboli par des liaisons entre polymères, dont certaines sont covalentes. Cette géométrie comporte des orientations fibrillaires horizontales constantes à un même niveau, mais avec une rotation progressive dans le sens des aiguilles d'une montre, quand on s'élève dans l'épaisseur de la carapace (horizontal signifie ici parallèle au plan local de la carapace). Les cônes autour de chaque direction moyenne renferment localement 95 % au moins des orientations fibrillaires dans un proche voisinage du point considéré. b : Les divers types d'agrégation des microfibrilles observés dans la partie externe (1) et la partie profonde (2) de la (pi), ainsi que dans la (cp) et la (mb), en (3) et (4). La calcite se dépose dans les interstices libres de la trame organique, c'est-à-dire dans (pi) et (pr) et pratiquement pas dans (ep) et (mb) (d'après [66]).

De plus, l'espace restant libre entre ces agrégats est progressivement occupé par du carbonate de calcium, comme le montre la figure 12 [59], généralement sous forme de calcite, ce qui est connu depuis longtemps (bibliographie dans [49, 65]), et confirmé par mes diagrammes de diffraction des électrons, sur coupe fine de carapace non déminéralisée, qui furent publiés par Neville [67]. Ces dépôts carbonatés peuvent aussi demeurer amorphes dans certaines régions. De plus, on a signalé parfois la présence de vaterite, une autre forme cristalline du carbonate de calcium. Les phosphates sont plus ou moins abondants, mais il existe certaines espèces de crustacés où ils sont majoritaires, notamment les cigales de mer. La minéralisation est souvent incomplète, notamment dans les parties profondes des prismes, en raison d'autres sécrétions organiques entre les fibrilles chitino-protéiques [68].

La carapace est pratiquement un mésopore, si l'on en juge par les distances séparant les fibrilles chitino-protéiques qui constituent le template, 50 nm environ dans la couche principale. La carapace est aussi un macropore en raison des prolongements cylindriques du cytoplasme épidermique qui la pénètrent, en traversant perpendiculairement les couches à géométrie cholestérique, mais certaines ramifications de ces prolongements cytoplasmiques ont la finesse des canaux de mésopores [60, 69].

En pratiquant des cupules d'érosion dans la carapace au moyen d'une fraise de dentiste, et en pénétrant jusque dans les niveaux post-exuviaux, nous avons observé après une dizaine de jours, que les canalicules des régions concernées véhiculaient des produits se déposant à la surface de la zone érodée, comme pour y reconstituer une épicuticule [69].

Ce composite méso- et macropore est organisé, avec une distribution précise des enzymes et des structures nécessaires à la minéralisation :

1- Des phosphatases alcalines sont localisées sous l'épicuticule [70], résultat que nous avons vérifié. Il s'agit des

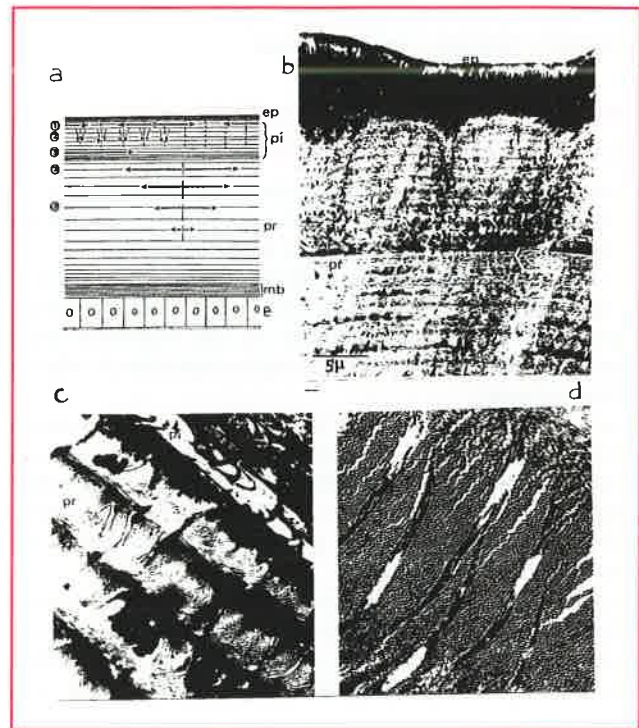


Figure 12 - Quelques aspects de la progression de la calcite au cours de la minéralisation d'une carapace de crabe (*Carcinus maenas*, MET, voir légendes dans la figure 9).

a : Trois stades ont été distingués : 1- immédiatement après la mue, quand la nouvelle cuticule s'est entièrement dépliée, on observe la croissance radiale de la calcite sous forme de disques sous l'épicuticule, à partir de centres plus ou moins dispersés ; 2- la minéralisation progresse le long des parois interprismatiques dans la (pi) et dans les couches les plus superficielles de la (pr) ; 3- la minéralisation se poursuit dans les couches profondes de la (pi) et progresse aussi dans la (pr). b : Coupe d'une cuticule en cours de minéralisation, au début du stade 2. L'épicuticule échappe à la minéralisation. Les cloisons interprismatiques sont progressivement recouvertes de calcite. c : Fin de la phase 2 observée en coupe à la limite des couches pré- et post-exuviales. Les couches cholestériques sont inclinées dans la micrographie de gauche à droite. d : Coupe de la (pr) intégralement minéralisée. Dans le milieu de la figure, les filaments chitino-protéiques apparaissent en section transversale sous forme de trous clairs par contraste avec la calcite beaucoup plus dense aux électrons. En haut à droite, ils sont en coupe oblique, en raison de la torsion cholestérique. L'axe hélicoïdal est dans le plan de la coupe selon la diagonale allant de bas en haut et de gauche à droite. Cette direction est suivie par les canaux cytoplasmiques, qui se trouvent ici entièrement cernés par le minéral. Barre : 1 µm (d'après [59]).

premières couches minéralisées et on sait que des phosphates bloquent facilement la croissance de la calcite. Ces phosphatases pourraient libérer les phosphates qui s'attachent au réseau de calcite et donc faciliter sa croissance [71].

2- Dans les couches préexuviales également, on trouve de l'anhydrase carbonique qui accélère la précipitation des carbonates et est localisée le long de parois prismatiques dont la position correspond aux limites des cellules épidermiques, comme si cette enzyme avait été sécrétée au niveau des jonctions entre cellules [70, 72].

3- Les fibrilles chitino-protéiques seraient semi-conductrices et interviendraient dans certains mécanismes électrochimiques de la minéralisation [73].

4- Le pas hélicoïdal de la matrice chitino-protéique introduit des dissymétries favorables à la formation de dislocations vis dans la calcite, un facteur de croissance du minéral [68], et il se trouve que les régions qui doivent être minéralisées au plus vite après la mue sont précisément celles où le pas

hélicoïdal est le plus petit, c'est-à-dire celles les plus fortement « twistées » (ou torsadées).

## Les « templates » des mésopores et macropores biologiques

Nous avons rencontré jusqu'ici deux types de templates :

- soit des *molécules amphiphiles*, agrégées en micelles, en bicouches ou en des structures plus complexes,
- soit des *polymères*, qui fonctionnent comme des molécules amphiphiles, notamment certains bloc-copolymères.

Dans tous les cas, la géométrie de ces matériaux entre lesquels se fera la minéralisation est comparable à celle de *cristaux liquides*.

Pour ce qui est des systèmes biologiques, ces diverses situations sont peut-être réalisées, mais celles que nous avons rencontrées, et partiellement décrites, comportent uniquement des *membranes cellulaires* et des *polymères fibrillaires*, lesquels sont en grande partie assemblés au contact des membranes.

De plus, on peut s'interroger sur la situation *intracellulaire* ou *extracellulaire* des mésopores ou macropores biologiques. Une brève récapitulation des exemples montre que toutes ces formations sont séparées du cytoplasme par une bicouche membranaire. La situation extracellulaire est évidente pour les épines (ou soies) des vers marins chez les vers de terre. C'est le cas également des carapaces de crustacés, même si elles sont traversées par de fins prolongements cytoplasmiques des cellules de l'épiderme, puisque ces prolongements sont toujours limités par une bicouche de membrane cellulaire. On montrerait que la situation est comparable dans le tissu osseux des vertébrés.

Pour les structures squelettiques minéralisées des espèces unicellulaires, elles semblent localisées, au moins au début de leur formation, dans des vésicules membranaires closes, enfermées dans le cytoplasme, mais elles se trouvent parfois libérées à la surface de la cellule par fusion de la bicouche de la vésicule avec la membrane plasmique externe de la cellule. Les spicules d'invertébrés demeurent généralement intracellulaires, enfermés dans une vésicule intracytoplasmique, limitée elle-même par une membrane de type bicouche phospholipidique qui sert de template pour la forme externe du spicule. Parfois plusieurs cellules interviennent dans la formation d'un même spicule, notamment chez les spongiaires et les échinodermes, mais bien des choses restent à préciser au niveau cytologique au sujet des vésicules limitantes des spicules. Une trame organique fibrillaire est fabriquée au sein de ces vésicules chez les octocoralliaires, en formant un template interne de la structure du spicule, alors que la membrane de la vésicule constituera le template externe.

Les templates des mésopores biologiques ou des systèmes apparentés sont des cristaux liquides ou des analogues stabilisés. Leurs morphologies souvent complexes sont liées, comme pour les mésopores de synthèse, aux textures très élaborées de ces phases ordonnées. Il faut prendre en compte aussi la capacité des cellules à contrôler certaines étapes de la mise en place de ces matériaux, en raison notamment de la fluidité de ces systèmes aux premiers stades de leur sécrétion. L'intégration de ces matériaux en des fonctions très diversifiées devrait attirer l'attention des chercheurs, l'exemple de la carapace des crustacés étant très riche d'enseignement dans cette perspective, parce que ce composite de type mésopore intervient dans l'organisation de nombreux récepteurs sensoriels, tactiles,

chimiques, visuels, etc. Les cellules y prennent une part importante, par chimie douce et par une subtile biomécanique mettant en jeu des filaments qui déterminent la structuration et la motricité du cytoplasme (consulter à ce sujet ce qui concerne le cytosquelette dans les traités récents bien documentés et par exemple [74]). Les problèmes encore en suspens dans ce domaine concernent la coordination du fonctionnement du cytosquelette à l'intérieur de chaque cellule, mais aussi au niveau des populations cellulaires.

## Perspectives

Les recherches ultérieures sur les mésopores seront donc inspirées en partie par les travaux sur les cristaux liquides et par les progrès concernant leurs analogues biologiques. A ce sujet, il faut rappeler que beaucoup de phases cristallines liquides sont métastables, ce qui ne simplifie pas les représentations des diagrammes de phases, et certaines d'entre elles ne sont accessibles qu'au terme d'un parcours défini au sein des diagrammes [42, 69, 75]. Ajouter une fraction minérale directement ou par l'intermédiaire d'un matériau hybride apporte un peu plus de complexité, mais les résultats n'en sont pas moins prometteurs.

On sait également que chaque phase ordonnée présente ses défauts propres, mais que les associations de défauts ou textures dépendent de la position du point représentatif du système dans le domaine de cette phase. On peut même distinguer des sous-domaines dans les diagrammes de phases correspondant à certaines textures. Les morphologies de mésopores étant essentiellement liées aux défauts et aux textures, les progrès exigeront peut-être beaucoup de patience, celle d'établir les diagrammes jusque dans les sous-domaines de certaines phases métastables.

Les mésopores peuvent servir de céramiques et s'intégrer à des dispositifs nano-électroniques, mais on peut les remplir aussi de certains médicaments. D'ici quelques années, les mésopores seraient donc de bons candidats pour constituer des nanoparticules, support de principes actifs, libérables de manière contrôlée, à proximité de cellules ou de tissus cibles, à soigner ou à éliminer. Cela suppose la mise au point aux nanoéchelles de mécanismes permettant de reconnaître certaines caractéristiques moléculaires des cibles et de provoquer au bon site et au bon moment la libération des principes actifs. Il s'agit encore d'une fiction.

Toute ma gratitude à plusieurs amis pour des discussions très utiles : les Professeurs J.-M. Devoisselle, J. Livage et S. Hyde, ainsi que les Docteurs H. Arribart, C. Charnay, M.-M. Giraud-Guille et C. Sanchez.

## Références

- [1] Behrens P., Mesoporous inorganic solids, *Advanced Materials*, **1993**, 5, p. 127.
- [2] Attard G.S., Glyde J.C., Goltner C.G., Liquid crystalline templates for the synthesis of mesoporous silica, *Nature*, **1995**, 378, p. 366.
- [3] Göltner C.G., Antonietti M., Mesoporous materials by templating of liquid crystalline phases, *Advanced Materials*, **1997**, 9, p. 431.
- [4] Patarin J., Kessler H., Les chimistes jouent avec des polyèdres pour fabriquer des solides poreux : une percée dans les trous, *La Recherche*, sept. **2000**, 334, p. 18.
- [5] Sanchez C., Lebeau B., Patarin J., Structures à base inorganique, Chap. VIII, p. 151, *Biomimétisme et Matériaux*, OFTA, Arago 25, Masson, Paris, **2001**.
- [6] van Meerssche M., Feneau-Dupont J., *Introduction à la Cristallographie et à la Chimie Structurale*, Peeters, Louvain, 3<sup>e</sup> éd., **1984**.
- [7] Curl R., Smalley R., Les fullerènes, *Pour la Science*, déc. **1991**, 170, p. 46.



- [8] Iijima S., Helical micotubules of graphite carbon, *Nature*, **1991**, *354*, p. 56.
- [9] Terrones M., Grobert N., Olivares J., Zhang J.P., Terrones H., Kordatos K., Hsu W.K., Hare J.P., Townsend P.D., Prassides K., Cheetham A.K., Kroto H.W., Walton D.R.M., Controlled production of aligned-nanotube bundles, *Nature*, **1997**, *338*, p. 52.
- [10] Lenosky T., Gonze X., Teter M., Elser V., Energetics of negatively curved graphitic carbon, *Nature*, **1992**, *355*, p. 333.
- [11] Yang H., Coombs N., Sokolov I., Ozin G.A., Free-standing and oriented mesoporous silica films grown at the air-water interface, *Nature*, **1996**, *381*, p. 589.
- [12] Oliver S., Kuperman A., Coombs N., Lough A., Ozin G., Lamellar aluminophosphates with surface patterns which mimic diatom and radiolarian microskeltons, *Nature*, **1995**, *378*, p. 47.
- [13] Bouligand Y., Les soies et les cellules associées chez deux annélides polychètes, *Zeitschrift für Zellforschung*, **1967**, *79*, p. 332.
- [14] Sanchez C., Babonneau F., Chimie des matériaux hybrides élaborés par la méthode sol-gel, *Matériaux Hybrides*, C. Sanchez éd., OFTA, Masson, Paris, **1996**, p. 33.
- [15] Livage J., Procédés sol-gel et biologie, *Matériaux Hybrides*, C. Sanchez éd., OFTA, Masson, Paris, **1996**, p. 299.
- [16] Grosso D., Balkenende A.R., Albouy P.A., Lavergne M., Mazerolles L., Babonneau F., Highly oriented 3-D hexagonal silica thin films produced with cetyltrimethylammonium bromide, *J. Mater. Res.*, **2000**, *10*, p. 2085.
- [17] Yang H., Kuperman A., Coombs N., Mamiche-Afara S., Ozin G.A., Synthesis of oriented films of mesoporous silica on mica, *Nature*, **1997**, *379*, p. 703.
- [18] Yang H., Coombs N., Ozin I., Ozin G.A., Morphogenesis of shapes and surface patterns in mesoporous silica, *Nature*, **1997**, *386*, p. 692.
- [19] Bouligand Y., Geometry of (non smectic) hexagonal mesophases, *J. Physique, Paris*, **1980**, *41*, p. 1297 ; Defects and textures of hexagonal discotics, *J. Physique, Paris*, **1980**, *41*, p. 1307.
- [20] Ozin G.A., Kresge C.T., Yang H., Nucleation, growth and form of mesoporous silica. Role of defects and a language of shape, *Studies in Surface Science and Catalysis*, **1998**, *117*, p. 119.
- [21] Yang H., Coombs N., Ozin G.A., Thickness control and defects in oriented mesoporous silica film, *J. Material Chemistry*, **1998**, *8*, p. 1205.
- [22] Yang H., Ozin G.A., Kresge C.T., The role of defects in the formation of mesoporous silica, *Advanced Materials*, **1998**, *10*, p. 883.
- [23] Sokolov I., Yang H., Ozin G.A., Kresge C.T., Radial patterns in mesoporous silica, *Advanced Materials*, **1999**, *11*, p. 637.
- [24] S. Schacht, Q. Huo, I.G. Voigt-Martin, G.D. Stucky & F. Schüth, Oil-water interface templating of mesoporous macroscale structures, *Science*, **1996**, *273*, p. 768.
- [25] Braun P.V., Osenar P., Stupp S.I., Semiconducting superlattices templated by molecular assemblies, *Nature*, **1996**, *380*, p. 325.
- [26] Unger K., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **1983**, *9* (1, 2), p. 69.
- [27] Vallet-Regi M., *Chem. Mat.*, **2001**, *13*(2), p. 308.
- [28] Mann S., Ozin G.A., Synthesis of inorganic materials with complex form, *Nature*, **1996**, *382*, p. 313.
- [29] Livage J., Le mariage du verre et du vivant, *La Recherche*, mai **2001**, *342*, p. 4.
- [30] Livage J., Chimie douce: from shake-and-bake processing to wet chemistry, *New J. Chem.*, **2001**, *25*, p. 1.
- [31] Arribart H., Bensaude-Vincent B., Les beautés du vivant défient les chimistes, *La Recherche*, nov. **1999**, *325*, p. 56.
- [32] Bensaude-Vincent B., Arribart H., Bouligand Y., Sanchez C., Chemists and the school of nature, *New J. Chem.*, **2002**, *26*, p. 1.
- [33] Muth O., Schellbach C., Froba M., Triblock copolymer assisted synthesis of periodic mesoporous organosilicas (PMOs) with large pores, *Chem. Commun. (Camb)*, **2001**, *7*(19), p. 2032.
- [34] Bouligand Y., Twisted fibrous arrangements in biological materials and cholesteric mesophases, *Tissue & Cell*, **1972**, *4*, p. 189.
- [35] Bouligand Y., Recherches sur les textures des états mésomorphes, série de six articles, *J. Physique, Paris*, **1972**, *33*, p. 525 et p. 715 ; **1973**, *34*, p. 603 et p. 1011 ; **1974**, *35*, p. 215 et p. 959.
- [36] Bouligand Y., Defects and textures in cholesteric analogues given by some biological systems, *J. Physique, Paris*, **1975**, *36*, C1, p. 331.
- [37] Bouligand Y., Liquid crystals and their analogs in biological systems, *Solid State Physics*, **1978**, Suppl. *14*, p. 259.
- [38] Bouligand Y., Liquid crystalline order in biological materials, *Liquid Crystalline Order in Polymers*, A. Blumstein éd., Acad. Press, **1978**, Chap. 8, p. 261.
- [39] Bouligand Y., Potentialités biomimétiques des défauts et textures, *Biomimétisme et Matériaux*, Chap. XI, OFTA, Masson, Paris, **2001**, Arago 25, p. 281.
- [40] *Silicon and siliceous structures in biological systems*, S.T.L. Simpson, B.E. Volcani eds., Springer Verlag, N.-Y., Heidelberg, Berlin, **1981**.
- [41] Coradin T., *Biomimétisme et Matériaux*, C. Sanchez éd., OFTA, Arago 25, Masson, Paris, **2001**.
- [42] Bouligand Y., Remarks on the geometry of micelles, bilayers and cell membranes, *Liquid Crystals*, **1999**, *26*, p. 501.
- [43] Haeckel E., Die Radiolarien (Rhizopoda Radiata), eine Monographie, G. Reimer, Berlin, **1862** ; voir aussi *Radiolaria, The Voyage of H.M.S. « Challenger », 1887.*
- [44] Kroger N., Bergsdorf C., Sumper M., A new calcium binding glycoprotein family constitute a major diatom cell wall component, *EMBO J.*, **1994**, *13*, p. 4676.
- [45] Kroger N., Bergsdorf C., Sumper M., Frustulins: domain conservation in a protein family associated with diatoms cell walls, *Eur. J. Biochem.*, **1996**, *239*, p. 259.
- [46] Kroger N., Wetherbee R., Pleuralins are involved in theca differentiation in the diatom, *Cylindrotheca fusiformis*, *Protist*, **2000**, *151*, p. 263.
- [47] Kroger N., Deutzmann R., Bergsdorf C., Sumper M., Species-specific polyamines from diatoms control silica morphology, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **2000**, *97*, p. 14133.
- [48] Kroger N., Deutzmann R., Sumper M., Silica precipitating peptides from diatoms: the chemical structure of silaffin-1A, *Cylindrotheca fudiformis*, *J. of Biol. Chem.*, **2001**.
- [49] Prenant M., Les formes minéralogiques du calcaire chez les êtres vivants et le problème de leur déterminisme, *Biological Reviews*, **1927**, *2*, p. 365.
- [50] *The Mechanisms of Mineralization in the Invertebrates and Plants*, N. Watabe, K.M. Wilbur eds, Univ. South Carolina Pr., **1976**.
- [51] *Biological Mineralization and Demineralization*, Dahlem conferences, G.H. Nancollas éd., Springer Verlag, **1981**.
- [52] Mann S., Parker S.B., Ross M.D., Skarnulis A.J., Williams R.J.P., The ultrastructure of the calcium carbonate balance organs of the inner ear: an ultra-high resolution electron microscope study, *Proc. Roy. Soc. Lond. B*, **1983**, *218*, p. 415.
- [53] Parker S.B., Skarnulis A.J., Westbroek P., Williams R.J.P., The ultrastructure of coccoliths from the marine alga *Emiliana huxleyi* (Lohman) Hay and Mohler: an ultra-high resolution electron microscope study, *Proc. Roy. Soc. Lond. B*, **1983**, *219*, p. 111.
- [54] *Biomimétisme et Matériaux*, C. Sanchez éd., OFTA, Arago 25, Masson, Paris, **2001**.
- [55] David B., Néraudeau D., La symétrie d'ordre cinq des échinodermes, *Revue du Palais de la Découverte*, oct. **1994**, *23*, n° 221, p. 69.
- [56] Nyssen H.-U., Crystal orientation and plate structure in echinoid skeletal units, *Science*, **1969**, *166*, p. 1150.
- [57] Günning B.E.S., The greening process in plastids. 1. The structure of the prolamellar body, *Protoplasma*, **1965**, *60*, p. 111.
- [58] Bouligand Y., Geometry and topology of cell membranes, *Geometry in Condensed Matter Physics*, J.F. Sadoc éd., World Scientific, **1990**, p. 193.
- [59] Bouligand Y., Aspect ultrastructuraux de la calcification chez les crabes, *7<sup>e</sup> Cong. internat. de microscopie élect.*, Grenoble, **1970**, *3*, p. 105.
- [60] Compère P., Goffinet G., Ultrastructural shape and three dimensional organization of the intracuticular canal systems in the mineralized cuticle of the green crab, *Tissue & Cell*, **1987**, *19*, p. 839.
- [61] Giraud-Guille M.-M., Chanzy H., Vuong R., Chitin crystals in arthropod cuticles revealed by diffraction contrast transmission electron microscopy, *J. of Structural Biology*, **1990**, *103*, p. 232.
- [62] Blackwell J., Weih M.A., Structure of chitin-protein complexes: ovipositor of the ichneumon fly, *Megarhyssa*, *J. Mol. Biol.*, **1980**, *137*, p. 49.
- [63] Bouligand Y., Sur une architecture torsadée répandue en de nombreuses cuticules d'Arthropodes, *C.R. Acad. Sci., Paris*, **1965**, *261*, p. 3665.
- [64] Revol J.F., Marchessault R.H., *In vitro* chiral nematic ordering of chitin crystallites, *Int. J. Biol. Macromol.*, **1993**, *15*, p. 339.
- [65] Drach P., Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés décapodes, *Ann. Inst. Océan., Paris (N.S.)*, **1939**, *19*, p. 3.
- [66] Giraud-Guille M.-M., Fine structure of the chitin-protein system in the crab cuticle, *Tissue & Cell*, **1984**, *16*, p. 75.
- [67] Neville C.A., *Biology of the Arthropod Cuticle*, Springer Verlag, **1975**.
- [68] Giraud-Guille M.-M., Bouligand Y., Crystal growth in a chitin matrix, the study of calcite development in the crab cuticle, *Chitin World*, Karnicki et al. eds, Neue Wissenschaft Verlag, **1994**, p. 136.
- [69] Bouligand Y., Problèmes de morphogénèse cuticulaire chez les crustacés, *Aspects Récents de la Biologie des Crustacés, IFREMER Actes de Colloques*, **1988**, *8*, p. 13.
- [70] Travis D.F., The deposition of skeletal structures in Crustacea, *Acta Histochemica*, **1963**, *15*, p. 251 ; p. 269 ; **1965**, *20*, p. 193.
- [71] Simkiss K., Phosphates as crystal poisons, *Biol. Rev.*, **1964**, *34*, p. 487.
- [72] Giraud-Guille M.-M., Carbonic anhydrase activity in the integument of the crab *Carcinus maenas* during the intermolt cycle, *Comp. Biochem. Physiol.*, **1981**, *69A*, p. 381.
- [73] Digby P.S.B., Calcification and its mechanism in the shore crab, *Proc. Linn. Soc., London*, **1967**, *178*, p. 129.
- [74] Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J.D., *Molecular Biology of the Cell*, Trad. française dirigée par N. Butor, 3<sup>e</sup> éd., Médecine-Sciences Flammarion, **2000**.
- [75] Gray G.W., *Molecular Structure and the Properties of Liquid Crystals*, Academic Press, London, **1962**.



**Yves Bouligand**  
dirige le Laboratoire d'histophysique  
et de cytophysique\*.

\* Histophysique et cytophysique, École pratique des hautes études et INSERM, 10 rue André Bocquel, 49100 Angers et 12 rue Cuvier, 75005 Paris.

Tél. : 02 41 73 59 04.

E-mail : bouligand@ibt.univ-angers.fr

## Biomimétisme et biocéramiques

Christèle Combes et Christian Rey

### Summary

#### Biomimetism and bioceramics

Biomimetism appears as an appealing concept for biomaterials used as tissue or organs substitutes. In a first part the mineral component of hard tissue is described. Nature has learned how to use every particularity of calcium phosphate chemistry to adapt the tissues to their diverse biological functions. The mineral/organic ratio, the crystal dimensions, the stoichiometry and the surface properties are controlled and adapted to reach specific properties. Biomaterials for bone substitution fulfil generally only part of the tissue function. The basis of the biological activity of bioceramics, their biointegration and biodegradation are exposed. Several examples of calcium phosphate bioceramics are described.

### Mots-clés Key-words

**Os, apatite, phosphates de calcium, biocéramiques, biomimétisme.  
Bone, apatite, calcium phosphates, bioceramics, biomimetism.**

L'imitation des processus biologiques ou des matériaux naturels n'est pas toujours utile ni souhaitable. Il est cependant des domaines où le biomimétisme semble plus justifié, c'est le cas notamment des biomatériaux implantables destinés à remplacer un tissu ou un organe défaillant. Paradoxalement, les premiers biomatériaux ont été choisis parmi les matériaux dont on disposait (céramiques : alumine, plâtre, métaux précieux, acier inoxydable ; polymères : PMMA, PE, silicones) et ils avaient peu de chose à voir avec les tissus qu'ils remplaçaient. Ce n'est que très récemment qu'ont commencé à apparaître des matériaux spécialement adaptés à une implantation et présentant des avantages biologiques indéniables (matériaux biodégradables et/ou bioactifs). La raison de ce développement tient à la nature même des matériaux du vivant. On est émerveillé par les propriétés de ces matériaux, la variété des architectures, leur finesse, leur adaptabilité, leur durabilité. Ils ont été une source d'inspiration, surtout dans le domaine artistique, et depuis peu dans le domaine scientifique. La prouesse est d'autant plus remarquable que ces matériaux, existant en de multiples exemplaires, sont nécessairement constitués à partir d'éléments simples et relativement abondants. La principale difficulté à leur imitation ne tient donc pas en la rareté des constituants, mais en leur organisation généralement très sophistiquée et que nos techniques sont encore incapables de reproduire. Les tissus durs donnent de multiples exemples plus ou moins réussis de ces matériaux adaptés à des fonctions biologiques précises, nous nous intéresserons plus particulièrement au tissu osseux dans la première partie de cet article. Nous présenterons ensuite les biocéramiques implantables conçues sur des bases biomimétiques.

### Les tissus durs

Il existe dans la nature une grande variété de tissus durs synthétisés par des organismes vivants. Les protéines seules ne conduisent pas à ce que l'on appelle les « tissus durs », malgré l'existence de parties dures (ongles, griffes, sabots), en kératine le plus souvent. Les tissus durs résultent, dans la grande majorité des cas, de l'association de molécules biologiques (de nature protidique le plus souvent) avec des minéraux. Le taux de minéralisation

(pourcentage de matière minérale dans le tissu) est très variable et peut aller de quelques dizaines de pour cents dans certaines écailles de poissons au voisinage de 100 % dans des tissus comme l'émail dentaire ou les coquillages. Une des caractéristiques essentielles de ces tissus est cependant l'association avec les matières organiques qui limitent et contrôlent la formation du minéral.

On distingue plusieurs types de contrôle des biominéralisations, le plus commun et le plus étudié est le système « template » : la minéralisation s'effectue sur un substrat généralement constitué de macromolécules organiques qui favorisent et orientent la formation des cristaux. Les tissus durs des mammifères résultent le plus souvent de la minéralisation de matrices organiques auto-assemblées. Dans le cas des os, il s'agit de fibres de collagène structurées. Au cours de la minéralisation, l'eau associée aux structures de collagène est progressivement remplacée par le minéral. La formation de ce dernier est étroitement contrôlée par la présence de zones de nucléation délimitées et un contrôle strict de la croissance cristalline par des inhibiteurs de croissance cristalline ioniques à l'intérieur de la matrice et des inhibiteurs macromoléculaires à l'extérieur des fibres. Dans certains cas d'os hyperminéralisés, il existe une destruction de la matrice organique qui permet d'accroître la proportion de minéral. C'est également le cas dans l'émail dentaire où la minéralisation s'accompagne de l'élimination de certaines protéines. Dans d'autres cas, la matrice organique, constituée de cellules organiques repliées, se déploie au cours de la minéralisation, délimitant l'espace de minéralisation.

Les biominéraux les plus communs sont les carbonates et les phosphates de calcium. Les carbonates se trouvent essentiellement dans les formes de vie les plus primitives. Les trois variétés cristallines les plus communes du carbonate de calcium (vaterite, aragonite, calcite) sont présentes. Les phosphates de calcium sont également présents dans des formes de vie très primitives, le plus souvent sous forme de phase amorphe ou très mal cristallisée, mais ils ont pris une importance particulière chez les vertébrés où ils existent essentiellement sous forme cristallisée d'apatite. Cette structure unique permet, comme nous le verrons, une adaptabilité remarquable à la fonction biologique des différents tissus.

Les tissus minéralisés apparaissent comme le terme d'une évolution complexe. Chez les êtres unicellulaires les plus primitifs, il est généralement admis que la formation de minéraux à l'intérieur de la cellule est utilisée comme réservoir d'ions nécessaires à la vie. Chez certains organismes, ces nodules peuvent être excrétés et forment des concrétions à l'extérieur de l'organisme. Ces deux fonctions réservoir d'ions et élimination sont les seules qui se manifestent chez les unicellulaires. Elles constituent un processus de régulation des concentrations intracellulaires en ions minéraux. Les concrétions minérales externes peuvent être également utilisées comme support de colonies cellulaires (coraux par exemple) dont elles permettent l'organisation et assurent la protection. Ces deux fonctions de protection et de structuration des parties molles sont vraisemblablement postérieures à celles de réservoir et d'élimination [1]. Cependant, ces organisations ne permettraient pas la mobilité des colonies ou des individus. Cette capacité est partiellement rétablie chez certains mollusques, mais c'est avec le squelette interne articulé des vertébrés qu'elle trouve toute son expression. La formation des crocs, dents et défenses est également une étape importante de l'évolution. Associée à la mobilité, elle donnait aux espèces de plus grandes chances de survie. Il est remarquable que l'apparition de fonctions supplémentaires au cours de l'évolution s'accompagne le plus souvent de la conservation des fonctions anciennes. Ainsi, si nos os servent à structurer l'organisme et permettent sa mobilité, ils ont gardé leur rôle de réservoir d'ions minéraux et de régulation des fluides biologiques.

Notre exposé se limitera au minéral osseux. Nous présenterons tout d'abord le tissu osseux, puis nous nous intéresserons à la physico-chimie des apatites biologiques et nous verrons comment l'évolution a su utiliser les caractéristiques d'un minéral pour l'adapter à une fonction biologique.

### Caractéristiques du tissu osseux

Les tissus osseux peuvent être définis comme un matériau composite minéral-organique. Leur composition varie selon les espèces, la localisation du tissu, l'âge, le régime alimentaire, les maladies. Pour la partie médiane d'un os long (os cortical) de mammifère, la matrice organique représente environ 22 % (en masse), le minéral 69 %, le restant (soit 9 %) étant de l'eau constituant le fluide osseux ou liée soit à la matrice organique, soit au minéral. La matrice organique est elle-même constituée à 90 % par du collagène de type 1. Il existe par ailleurs dans l'os des cellules, alimentées par un réseau complexe de canalicules (canal de Havers) et différents types de protéines non collagéniques. Il y a cependant des types d'os très différents avec des teneurs en minéral variables. L'arête du hareng, par exemple, n'est pas vascularisée et elle se minéralise progressivement. Sa teneur en minéral est toujours inférieure à celle d'un os de mammifère et elle peut se déformer.

Chez les mammifères, l'os est en perpétuelle évolution, au cours de la croissance tout d'abord, mais également chez l'adulte (remodelage osseux). Les raisons de ce remodelage seront précisées ultérieurement.

L'architecture d'un os cortical de mammifère est remarquable. Les fibres de collagène s'organisent en un réseau concentrique autour d'un canalicule (ostéon). Le minéral cristallise dans les espaces extra- et intra-fibrillaires. Les cristaux constitués de fines plaquettes allongées de

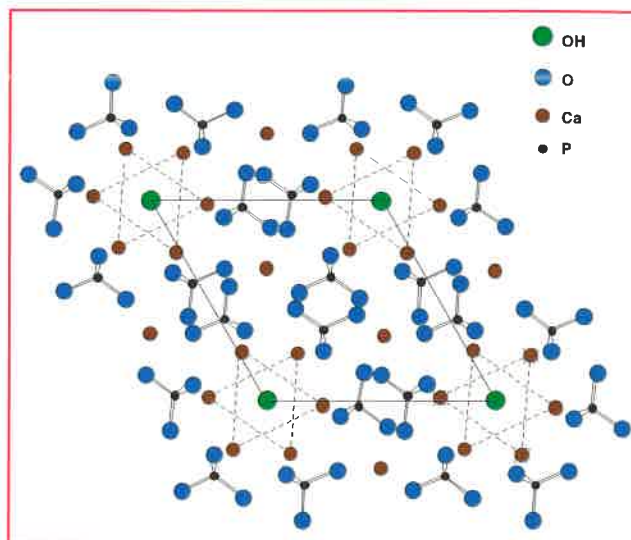


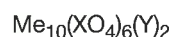
Figure 1 - Projection sur le plan de base (001) de la maille de l'hydroxyapatite.

Les deux triangles calcium bordant les « tunnels » de la structure sont situés aux cotes  $z = 1/4$  et  $z = 3/4$ . Les ions  $\text{OH}^-$  sont légèrement en-dessous ou au-dessus de ces triangles.

dimensions nanométriques présentent une orientation commune. Les ostéons se reconstituent en permanence en raison de l'action conjuguée de cellules chargées de détruire le tissu osseux (ostéoclastes) et de cellules chargées de le reconstruire (ostéoblastes).

### Le minéral

Le minéral osseux présente une structure d'apatite. Les apatites constituent une vaste famille de composés ionocovalents pouvant être représentée par la formule générique :



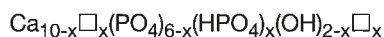
dans laquelle Me est un ion bivalent,  $\text{XO}_4$  un anion trivalent, et Y un ion monovalent. La structure type est hexagonale (groupe d'espace  $\text{P6}_3/\text{m}$ ). Elle peut être décrite comme un empilement de plans  $\text{Me}_6(\text{XO}_4)_6$  aux cotes  $z = 1/4$  et  $3/4$  (figure 1) ; les ions  $\text{XO}_4^{3-}$  présentent deux atomes d'oxygène dans le plan : O(I) et O(II), et deux autres cristallographiquement équivalents dans un plan perpendiculaire : O(III) et O(III'). Les ions  $\text{Me}^{2+}(\text{II})$  forment des triangles équilatéraux. Ces plans sont liés par les 4 atomes Me (type II) restant aux cotes 0 et  $1/2$ .

Cet empilement ménage des tunnels centrés sur l'axe sénaire hélicoïdal et bordés par les triangles des ions  $\text{Me}^{2+}(\text{I})$  et les atomes d'oxygène O(III) et III') qui constituent un hexagone gauche à la cote  $z = 1/2$ . Les ions  $\text{Y}^-$  sont situés dans ces tunnels et reposent sur les tripodes constitués par les triangles  $\text{Me}^{2+}(\text{II})$ . La cote de ces ions varie suivant la taille des cations  $\text{Me}^{2+}$  et de l'anion  $\text{Y}^-$ . Dans la fluorapatite phosphocalcique par exemple ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$ ), les petits anions ( $\text{F}^-$ ) trouvent place au centre du triangle équilatéral Ca(II) à la cote  $1/4$  ou  $3/4$ . Les anions plus gros ont leur centre de gravité au-dessus (+) ou au-dessous (-) de cette cote. Localement le miroir m est perdu, mais il subsiste dans la plupart de ces apatites un désordre statistique. Dans certaines chlorapatites ou hydroxyapatites phosphocalciques stœchiométriques, il peut s'établir un ordre dans lequel

tous les ions OH ou Cl d'un tunnel sont situés d'un même côté d'un triangle Ca(II), (+) par exemple, et les ions OH ou Cl d'un tunnel adjacent de l'autre côté (-). Il en résulte une structure ordonnée et l'apatite possède alors une maille monoclinique avec un doublement du paramètre a.

Dans cet édifice ionique, des substitutions partielles ou totales peuvent avoir lieu sans que la structure soit notablement modifiée. Ces substitutions peuvent se faire avec des ions de même charge, ou de charge différente. Ainsi des ions  $\text{Ca}^{2+}$  peuvent être remplacés par des ions  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  [2]. Cette caractéristique est utilisée par certains organismes pour éliminer des éléments toxiques ; dans d'autres, elle constitue une source de contamination. Les anions  $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{OH}^-$  peuvent quant à eux être respectivement remplacés par des ions  $\text{VO}_4^{3-}$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$ , et/ou  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Br}^-$  et  $\text{I}^-$ .

Les substitutions par des ions de charges différentes nécessitent une compensation de charge pour respecter l'électroneutralité du solide. Celle-ci peut consister en la création de lacunes en ions de charge opposée, ou le couplage de substituants de charges différentes. Il se forme alors des apatites de formules complexes souvent partiellement lacunaires ou déficitaires. Ainsi, la substitution d'ions  $\text{PO}_4^{3-}$  par des ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  entraîne la formation d'une lacune en ion calcium et d'une lacune en ion  $\text{OH}^-$  [3]. La formule de ces apatites déficitaires en ions calcium est la suivante [4] :



On n'a jamais mis en évidence d'apatites lacunaires en ions  $\text{XO}_4$ . Ces ions, les plus gros de la structure, semblent nécessaires à sa stabilité [5]. Dans ces composés, la formule limite correspond à des tunnels entièrement vides  $x = 2$ . Certains ions, comme les ions carbonate, peuvent se substituer soit à des ions  $\text{PO}_4^{3-}$ , soit à des ions  $\text{OH}^-$ , soit encore aux deux à la fois. Il se forme alors des apatites carbonatées respectivement en site de type B, de type A ou de type AB [6]. Les apatites de type B contiennent des lacunes en ions calcium et  $\text{OH}^-$ . La substitution en site A entraîne uniquement la création de lacunes sur les sites Y<sup>-</sup>. Des ions  $\text{PO}_4^{3-}$  peuvent être substitués à la fois par des ions  $\text{CO}_3^{2-}$  et  $\text{HPO}_4^{2-}$  comme c'est le cas dans la plupart des apatites biologiques. Enfin, des substitutions couplées peuvent aussi avoir lieu. Par exemple, le remplacement simultané d'un ion  $\text{Ca}^{2+}$  par un ion  $\text{Na}^+$  et d'un ion  $\text{PO}_4^{3-}$  par un ion  $\text{CO}_3^{2-}$  n'entraîne ni déséquilibre de charges, ni création de lacunes ioniques. De très nombreux exemples d'apatites non stœchiométriques et/ou substituées ont été répertoriés. Il est à noter également que de nombreuses solutions solides existent entre les différentes apatites.

Notons enfin que certaines substitutions telles celles des ions  $\text{PO}_4^{3-}$  par des ions  $\text{CO}_3^{2-}$  conduisent à la création d'une lacune oxygène qui pourrait être occupée par des molécules d'eau ou par un autre anion [7].

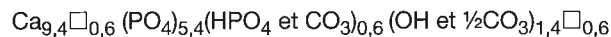
### Composition chimique et réactivité

La structure des apatites conditionne leur réactivité. Ainsi, les ions Y<sup>-</sup> dans les tunnels (site A) peuvent être facilement échangés à haute température sans altération des cristaux. Au contraire, les ions  $\text{XO}_4^{3-}$  et probablement les ions  $\text{Me}^{2+}$ , qui constituent l'ossature de l'apatite, ne peuvent l'être qu'à l'occasion de la restructuration du réseau.

L'existence de lacunes et/ou de substituants peut modifier considérablement la cohésion de la structure et altérer sensiblement les propriétés physico-chimiques des apatites.

Ces apatites sont thermiquement instables et se décomposent à des températures variables suivant la nature de la non stœchiométrie, généralement entre 400 et 700 °C. Par ailleurs, bien qu'il n'existe pas dans ce domaine d'étude approfondie, la dissolution des apatites lacunaires serait plus rapide et plus importante que celle des apatites stœchiométriques qui ont une plus grande cohésion [8]. L'existence de substituants et de lacunes permet une variation quasi-continue des propriétés physico-chimiques et confère à la structure apatitique une adaptabilité assez remarquable qui est mise à profit par de nombreux organismes. Considérons à titre d'exemple la composition moyenne de l'émail dentaire et du minéral osseux :

Émail :



Os :



L'apatite de l'émail est très proche de la stœchiométrie. Cette composition lui assure une moindre solubilité et lui permet de résister aux attaques acides des aliments ou des bactéries de la flore buccale. Le record de stabilité est probablement détenu par l'émail des dents de requins, constitué d'une fluorapatite pratiquement stœchiométrique, parmi les plus insolubles des apatites. Au contraire, la composition du minéral osseux révèle une quantité considérable de lacunes qui facilitent sa dissolution et lui permettent de jouer son rôle de réservoir d'ions. L'adaptabilité à la fonction biologique va cependant bien au-delà de la sélection d'une composition chimique : le taux de minéralisation de la matrice organique, la taille et l'orientation cristalline sont également utilisées. Ainsi, l'émail dentaire présente un taux de minéralisation voisin de 100 %. Il est constitué de très gros cristaux, de faible surface spécifique, dont la dissolution est lente. Ces cristaux présentent une orientation commune avec l'axe c de la maille apatitique perpendiculaire à la surface de l'émail. Cette orientation dans la direction d'élongation des cristaux, qui correspond à la vitesse de croissance cristalline la plus élevée, permettrait une reminéralisation partielle de l'émail par la salive. Au contraire, le minéral osseux présente une densité de minéralisation variable, plus faible dans les zones épiphysaires de remodelage rapide. Il est formé de nanocristaux de très grande surface spécifique facilitant les phénomènes de dissolution. L'orientation de ces cristaux semble beaucoup moins rigoureuse que celle de l'émail.

La réactivité des apatites n'est cependant pas uniquement liée à leur composition chimique ou leur taille cristalline. Les nanocristallites présentent des propriétés particulières.

### Caractéristiques structurales fines des nanocristallites

Les apatites de synthèse fraîchement préparées ou les tissus au tout début de la minéralisation présentent à côté des sites apatitiques bien identifiés d'autres environnements ioniques (dits non apatitiques) [9]. Ces environnements montrent des caractéristiques spectroscopiques particulières et une certaine analogie avec les phosphates de calcium hydratés tels que le phosphate dicalcique dihydraté ou le phosphate octocalcique.

Ces structures sont en fait apparentées et le phosphate octocalcique peut être décrit comme une structure lamellaire constituée d'un assemblage de feuillets denses correspondant à une demi-maille apatitique et de feuillets hydratés correspondant à la composition chimique du phosphate

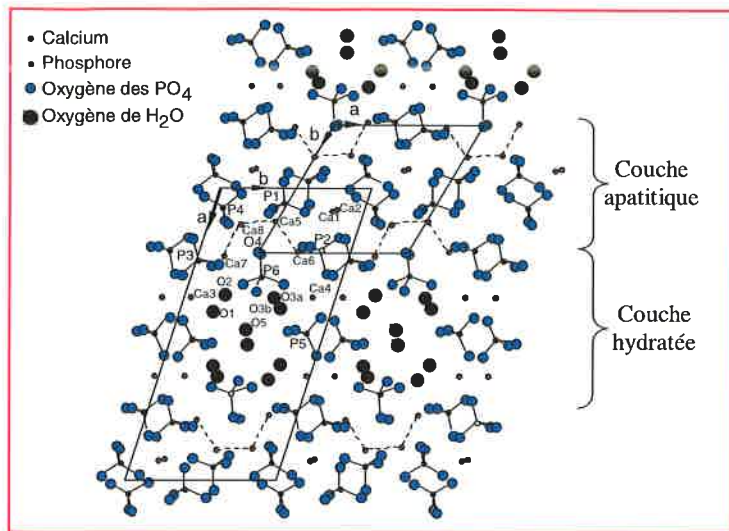


Figure 2 - Projection sur le plan de base 001 de la structure du phosphate octocalcique (OCP).

Le domaine « apatitique » correspond au losange supérieur, analogue à la maille de l'apatite (voir figure 1). Le quadrilatère inférieur correspond à la maille de l'OCP. Seuls les atomes d'oxygène des molécules d'eau de la couche hydratée sont représentés.

dicalcique (figure 2) [10]. Il a été suggéré qu'il était possible de passer progressivement de la structure OCP à la structure apatitique par réaction topotactique correspondant à l'élimination de la couche hydratée [11]. Il faut cependant noter que les environnements non apatitiques mis en évidence par les techniques spectroscopiques ne s'identifient à aucune des phases bien cristallisées. Il s'agit d'environnements spécifiques proches de ces phases mais pas identiques. Ces environnements sont responsables de la grande réactivité des apatites nanocristallines.

### Propriétés des apatites biologiques et de leurs analogues de synthèse

La réactivité des apatites biologiques dépend de plusieurs facteurs : la présence d'environnements non apatitiques mais aussi la composition, la taille et la morphologie cristalline. Parmi ces facteurs, la présence d'environnements non apatitiques est déterminante en ce qui concerne les nanocristaux. Elle se traduit en particulier par des propriétés de maturation, d'échange ionique et d'adsorption.

#### Maturation des apatites

La maturation correspond à une évolution des apatites en solution conduisant à des apatites de plus en plus stables dans un milieu déterminé.

On distingue différents types de maturation selon la force motrice du phénomène. Le mûrissement d'Ostwald correspond à une diminution de l'énergie de surface des solides et se traduit par une dissolution des petits cristaux au profit des gros. Ce phénomène, toujours présent, est relativement lent et n'apparaît pas prépondérant pour les échelles de temps biologiques. Il se manifeste cependant dans les gisements de phosphates ou les fossiles dans lesquels la matrice organique est en grande partie dégradée et où le minéral paraît bien mieux cristallisé que celui d'un os contemporain. Le second type de maturation est déterminé par la composition chimique. Les apatites non stœchiométriques sont générale-

ment plus solubles que les apatites stœchiométriques et parmi celles-ci, la fluorhydroxyapatite est l'une des plus stables. Cette évolution de la structure apatitique, impliquant également des phénomènes de dissolution-reprécipitation, est aussi relativement lente et elle ne paraît pas non plus essentielle dans les systèmes biologiques. Par contre, les os fossiles montrent généralement une composition différente de celle d'un os contemporain, avec une proportion généralement plus élevée de métaux lourds et d'ions fluorure. Le troisième type de maturation est lié à la présence des environnements non apatitiques : il est relativement rapide et semble le seul phénomène déterminant pour les apatites biologiques.

Les premiers précipités sont très riches en environnements non apatitiques, cependant ils sont très instables. La maturation se traduit par une diminution de la proportion de ces environnements et un accroissement de la proportion des environnements apatitiques (figure 3) [12]. Durant ce processus, un certain nombre d'ions de la couche hydratée peuvent être intégrés de façon irréversible au réseau apatitique. D'autres, au contraire, ne peuvent être intégrés en quantité appréciable (c'est notamment le cas du magnésium dans les apatites phosphocalciques) et ils enrichissent la couche hydratée ou forment éventuellement d'autres phases [13]. La maturation du minéral osseux se traduit en particulier par une augmentation de la teneur en ions carbonate et une diminution de celle en ions  $\text{HPO}_4^{2-}$ . La capacité de maturation du minéral osseux est en fait exclusivement déterminée par sa teneur en environnements non apatitiques et la phase finale mature n'évolue plus pour des périodes biologiques. La composition des apatites est donc représentative du milieu de maturation.

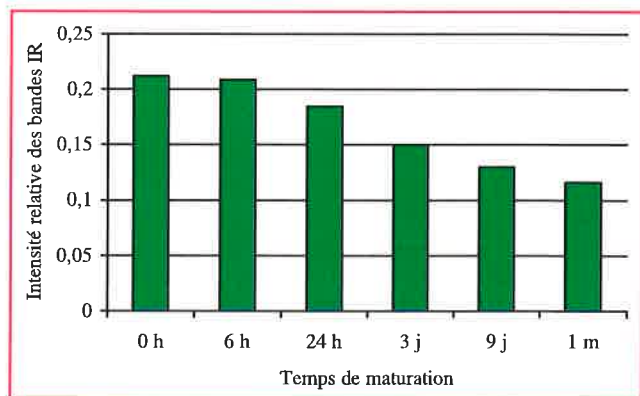


Figure 3 - Évolution de la proportion d'ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  non apatitiques en fonction du temps de maturation du précipité.

#### Échanges ioniques

Les ions de la couche hydratée peuvent être aisément échangés dans des réactions réversibles. Ainsi, lorsqu'une apatite fraîchement précipitée est plongée dans une solution d'ions carbonate, ces derniers peuvent se substituer très rapidement aux ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  de la surface et inversement (figure 4).

Cette capacité d'échange décroît cependant très rapidement avec le temps en raison des phénomènes de maturation qui conduisent à une diminution de la couche hydratée remplacée par une apatite plus stable (figure 5). Des observations analogues ont été effectuées pour les échanges cationiques [13].

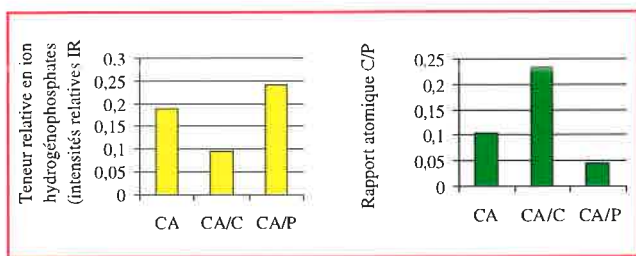


Figure 4 - Exemple d'échanges ioniques (carbonate-phosphate). CA : apatite carbonatée initiale maturée 24 h, CA/C : apatite carbonatée traitée dans une solution de carbonate d'ammonium (1 mois, 10 mn) ; CA/P : apatite carbonatée traitée dans une solution de phosphate d'ammonium (1 mois, 10 mn). Les ions se substituent sans modifier les caractéristiques de l'échantillon initial (taille des cristaux, non stœchiométrie). L'échange est réversible.

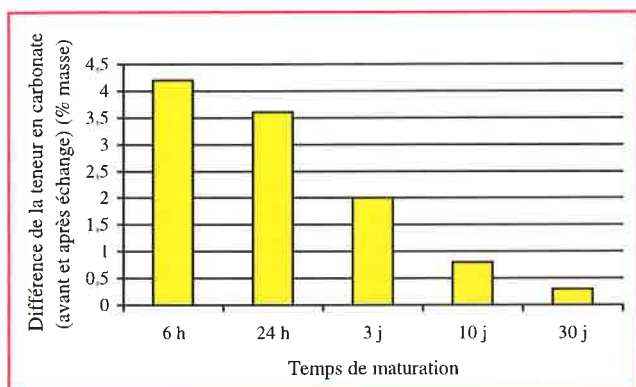


Figure 5 - Évolution de la capacité d'échange ionique des apatites précipitées au cours de la maturation. Cas de l'échange hydrogénophosphate-carbonate.

### Adsorption

Les échanges ioniques dans la couche hydratée d'apatites osseuses se traduisent par une libération massive de protéines [14]. Inversement, à concentrations à l'équilibre identiques, la fixation de certains facteurs de croissance est beaucoup plus importante sur les surfaces d'apatites nanocristallines que sur celles d'apatites stœchiométriques [15]. Ce résultat est cependant à nuancer et dépend beaucoup du type de protéines. En ce qui concerne l'albumine par exemple, les isothermes d'adsorption sont du type « Langmuir », mais leurs caractéristiques varient avec la maturation des apatites : la constante d'affinité semble croître considérablement avec le temps de maturation alors que la quantité maximale adsorbée diminue [16]. Généralement, les protéines sont adsorbées de façon irréversible.

Les propriétés d'adsorption des apatites sont mises à profit en chromatographie sur colonne. L'éluion des protéines est obtenue par déplacement à l'aide de solutions de concentration croissante en phosphate.

### Surface des apatites nanocristallines et conséquences biologiques

Une représentation schématique de la surface des apatites et des réactions de surface est proposée sur la figure 6. Il est probable qu'une couche hydratée renfermant des espèces ioniques relativement mobiles existe à la surface des

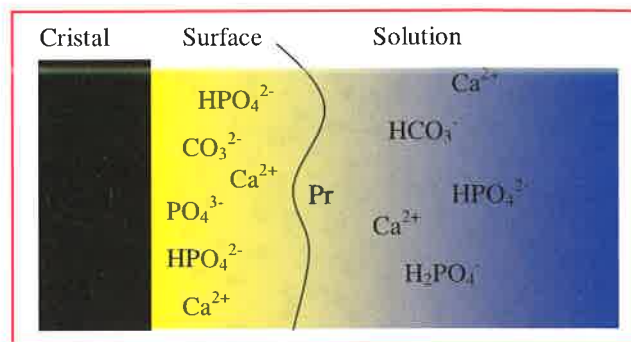


Figure 6 - La surface des apatites fraîchement précipitées est constituée d'une couche hydratée renfermant des espèces ioniques mobiles, facilement échangeables. Des protéines (Pr) peuvent également s'incorporer à cette couche et être déplacées par échange ionique.

apatites. Cette couche pourrait se rapprocher de celle du phosphate octocalcique. Elle s'en distingue cependant par la possibilité d'accueillir des ions carbonate et d'autres ions minéraux tels les ions  $\text{Mg}^{2+}$ . Cette couche pourrait rendre compte d'un certain nombre de propriétés de ces apatites, notamment une conductivité électrique très élevée, révélant une mobilité ionique de surface importante. Sa présence permet en outre de mieux comprendre le comportement des apatites biologiques. Elle participe efficacement à l'homéostasie en raison de la grande surface spécifique du minéral osseux et constitue un réservoir d'ions relativement important mais dépendant de l'état de maturation. La maturation est un phénomène physico-chimique inévitable : elle conduit à une perte de ces propriétés vitales d'échange ionique. Il est donc essentiel que le minéral puisse se renouveler. Cependant, comme les cycles de remodelage osseux s'espacent avec l'âge, les propriétés de surface se dégradent inévitablement. Cette évolution explique la sensibilité plus importante des enfants à certaines intoxications par des éléments minéraux comme le plomb et la localisation préférentielle de ces contaminants dans les zones osseuses au remodelage rapide (épiphyses). Les conséquences de cette structure minérale très particulière n'ont pas toutes été explorées, il est cependant vraisemblable que le minéral osseux soit aussi impliqué dans des régulations hormonales ou l'interaction chimique avec la matrice organique qui pourrait déterminer les propriétés mécaniques du tissu.

### Le problème du substitut osseux

Les pertes osseuses peuvent se produire dans différents traumatismes, elles peuvent résulter également de diverses interventions chirurgicales destinées à éliminer des tumeurs cancéreuses ou des foyers infectieux. Enfin, les substituts peuvent également être utilisés pour renforcer des os fragilisés par des maladies comme l'ostéoporose et permettre la pose de prothèses.

### Greffes de tissu et greffe d'organe

Le même terme est utilisé pour désigner deux opérations de substitution bien différentes. La greffe d'organe vise à restaurer la fonction biologique originelle. Le rétablissement du flux sanguin assure la viabilité des cellules et leur permet de jouer leur rôle. Dans le cas d'une greffe osseuse, ou plus

généralement d'une greffe tissulaire, le rétablissement de la circulation sanguine est souvent très difficile. Ainsi dans le cas d'un os cortical compact, la substitution d'un fragment par un fragment de même nature conduit à une altération des flux sanguins dans les parties à proximité de la jonction. La mauvaise vascularisation, la petitesse et la distribution des canalicules ne permettent pas d'assurer leur jonction, et généralement la greffe d'un tissu cortical est très mauvaise et ne prend pas. Contrairement à l'organe, la greffe du tissu osseux implique un processus biologique de réparation semblable à celui qui se produit lors d'une fracture : un cal se forme, se vascularise, les cellules ostéoblastiques génèrent une matrice collagénique qui se calcifie. Ces événements sont différents de ceux qui se produisent lors d'une greffe d'organe. Pour les favoriser, il faut en fait donner aux cellules un support poreux qui permet leur fixation, leur multiplication et favorise leur activité. Ainsi, le substitut de choix d'un os cortical n'est pas un tissu osseux de même nature, mais un tissu poreux (os spongieux) qui permettra au processus de réparation de s'établir. La présence dans la moelle osseuse de cellules indifférenciées qui peuvent, en particulier, évoluer vers la formation d'ostéoblastes favorise la réparation.

On distingue généralement plusieurs types de greffe dont les inconvénients ont maintes fois été commentés. Les autogreffes pour lesquelles le greffon est prélevé sur le patient (généralement sur la crête iliaque), offrent une quantité de matériau limitée, parfois de mauvaise qualité (si le patient est âgé ou souffre d'ostéoporose par exemple). Outre les difficultés opératoires, elles s'accompagnent fréquemment de douleurs au niveau du site de prélèvement. Les allogreffes (greffon prélevé sur une autre personne) et les xéno-greffes (greffon prélevé sur un animal) présentent des risques d'infection et de rejet. Il est possible de traiter ces dernières pour éviter ces inconvénients, mais la greffe ne présente alors plus de cellules vivantes et n'offre aucun avantage par rapport à un produit de synthèse.

## Les biocéramiques

Les céramiques biomédicales sont destinées à être implantées dans un organisme vivant et vont donc être en contact avec des tissus et/ou des fluides biologiques. Parmi les différentes biocéramiques disponibles, certaines n'ont pas été développées pour un usage spécifiquement biomédical (alumine, alumino-silicates, zircone, carbone vitreux ou encore le nitrure de titane, etc.) et ont été choisies en raison de leurs propriétés et de leur biocompatibilité, mais nous ne décrivons pas ce type de céramiques dans ce chapitre. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux céramiques destinées à un usage médical spécifique qui allient à leurs propriétés traditionnelles, une activité biologique favorisant l'intégration aux tissus et leur réparation : on parle alors de céramiques bioactives.

Les céramiques sont essentiellement utilisées en tant que substituts osseux en chirurgie orthopédique, maxillo-faciale et plastique. Selon le type et la forme du défaut à combler, le site d'implantation et les contraintes mécaniques, les chirurgiens ont à leur disposition différents types de biocéramiques avec des propriétés biologiques variables. Comme nous pourrions le voir à travers les exemples illustrant la fin de ce chapitre, la plupart des biocéramiques actuellement commercialisées se présentent sous forme de céramiques denses ou à porosité variable, de ciments, de dépôts ou de composites selon l'application visée.

Il nous paraît important de souligner que quel que soit le type de céramique choisi, on n'aboutira qu'à un rétablissement partiel de la fonction défaillante ou de la partie à combler.

### Bioactivité

Le terme « bioactivité » a des significations différentes selon les auteurs. Généralement, un matériau bioactif a la propriété de se lier directement au tissu osseux sans formation d'une interface fibreuse. Ce terme est également utilisé pour désigner des matériaux qui favorisent les processus de réparation tissulaire. Ces deux conceptions de la bioactivité recouvrent des phénomènes biologiques différents, mais elles peuvent se trouver réunies dans un même matériau. La première définition considère l'interaction implant-tissu alors que la seconde s'attache à l'interaction implant-cellule.

#### L'interaction implant-tissu

Lorsqu'un corps étranger est introduit dans l'organisme, il est la cause d'une cascade de phénomènes qui aboutit généralement à la formation d'une enveloppe fibreuse isolant l'implant de son environnement. L'intégration biologique d'un implant est déterminée, d'une part, par des facteurs mécaniques et, d'autre part, par des facteurs chimiques.

##### • Stabilisation mécanique

L'existence de micromouvements de l'implant conduit à une intégration médiocre, et il s'entoure d'un tissu fibreux d'encapsulation [17-18], même dans le cas de matériaux bioactifs. Ces micromouvements peuvent de plus créer des débris et/ou des réactions inflammatoires. La stabilisation mécanique de l'implant est donc une étape essentielle pour une bonne biointégration. Elle est généralement obtenue par une bonne procédure chirurgicale et facilitée par la présence de reliefs et/ou de porosités à la surface de l'implant. Ceux-ci peuvent également résulter d'une dégradation superficielle de l'implant *in vivo*.

##### • Interactions avec les constituants du tissu

La réussite de l'intégration de l'implant dépend également des interactions physico-chimiques qu'il établit avec le tissu. Grâce à de nombreux travaux, on connaît mieux les interactions entre l'implant et la partie minérale des tissus, mais il est toujours difficile de déterminer celles qui existent entre l'implant et la matrice collagénique du tissu. L'implantation de céramiques à base de phosphates de calcium apatitiques a montré qu'une continuité s'établissait entre les cristaux de la céramique et ceux du minéral osseux [19]. Cette liaison entre les matériaux apatitiques et le tissu osseux est très forte et lors d'essais mécaniques, la rupture apparaît généralement dans le tissu osseux et non à l'interface os-implant. Dans le cas de matériaux non apatitiques, par exemple les bioverres, il a été montré qu'une couche d'apatite carbonatée analogue au minéral osseux se formait à la surface de l'implant et assurait la liaison physico-chimique avec le tissu osseux.

#### L'interaction implant-cellule

Les cellules ostéoblastiques responsables de la formation du tissu osseux peuvent se développer sur une multitude de matériaux. Leur activité est cependant conditionnée par l'apport de fluides nutritifs. La porosité du matériau substrat est essentielle pour des reconstructions massives de tissu. Outre la mobilité des cellules, cette porosité doit également permettre une vascularisation de l'implant. Le diamètre optimal des pores semble compris entre 100 et 500  $\mu\text{m}$ . La formation de pores peut aussi résulter d'une dégradation du

Tableau I - Classification de différents biomatériaux en fonction de leur capacité à promouvoir la formation d'une couche d'apatite analogue au minéral osseux.

Biomatériaux « actifs »		
Types de biomatériaux	Ions actifs	Processus d'induction
Bioverres	Ca <sup>2+</sup>	diffusion hors du verre
Corail	Ca <sup>2+</sup> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	dissolution
Plâtre de Paris	Ca <sup>2+</sup>	dissolution
Ciments Ca-P	Ca <sup>2+</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , OH <sup>-</sup>	dissolution
Hydrogels alcalins	OH <sup>-</sup>	hydrolyse
Biomatériaux « passifs »		
Types de biomatériaux	Capacité à nucléer	Processus d'induction
Apatites frittées	excellente	épitaxie
Titane	moyenne	hydrolyse, fixation de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> et Ca <sup>2+</sup>
Hydrogels neutres	bonne	fixation de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
Collagène	bonne	fixation de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
Polyactiv®	bonne	fixation de Ca <sup>2+</sup>

matériau. Le point crucial est la morphologie des pores [20], et pour certains auteurs, la nature du matériau aurait peu d'importance, les contraintes locales jouant un rôle déterminant [21]. Il est certain cependant que l'interaction entre le tissu formé et le matériau dépend de la nature de ce dernier et il est important de distinguer l'activité cellulaire de la liaison implant-tissu. Ainsi, certains matériaux polymères traités peuvent se révéler d'excellents substrats pour la culture des ostéoblastes, mais il restent cependant des biomatériaux très médiocres en raison de leur inaptitude à se lier fortement aux constituants du tissu osseux.

### Biomimétisme et bioactivité

Il a été montré que tous les matériaux bioactifs qui se lient au tissu osseux et favorisent sa formation ont également la propriété de promouvoir la germination *in situ* des phosphates de calcium à partir des fluides biologiques. Cette couche présente des caractéristiques analogues à celles du minéral osseux. Elle est constituée d'apatite carbonatée nanocristalline à forte réactivité. Cette couche, dans laquelle on retrouve des protéines spécifiques du tissu osseux, permet la fixation des ostéoblastes et favorise leur activité. D'après certains auteurs, on retrouverait là un processus analogue à celui qui se produit naturellement lors du remodelage osseux, et la couche néoformée aurait une composition analogue à la zone cémentaire située à la périphérie d'un ostéon.

La capacité à former cette couche peut être considérée comme une mesure de l'activité biologique de ces céramiques. On peut distinguer deux grandes classes de biomatériaux selon le processus qui induit la formation de la couche d'apatite analogue au minéral osseux (voir *tableau I*) : soit l'implant joue un simple rôle de substrat pour la nucléation hétérogène (biomatériau « passif »), soit il comporte des ions qui vont localement modifier la concentration en ions dans les fluides biologiques et contribuer à la formation rapide de la couche apatitique (biomatériau « actif »).

Quel que soit le type de biomatériau implanté, cette couche est souhaitable à la surface de l'implant uniquement pour des applications en tant que substituts osseux et non pour des applications au niveau articulaire ou cardiovasculaire, par exemple, où il faut justement éviter toute germination de phosphates de calcium.

Le *tableau II* présente tous les phosphates de calcium entrant dans la composition des principaux substituts osseux. A l'heure actuelle, ils sont largement utilisés en chirurgie orthopédique et maxillo-faciale. Toutes les céramiques à base de phosphates de calcium sont bioactives.

### Biodégradation

Le phénomène de biodégradation peut résulter d'actions mécanique, physico-chimique ou cellulaire.

#### Dégradation mécanique

La dégradation mécanique est importante lorsqu'il y a des débris d'usure générés en particulier par les céramiques utilisées dans les couples de frottement. L'inflammation locale qui résulte de ce phénomène pourrait être responsable de certains descellements de prothèses.

Les micromouvements des implants soumis à des contraintes périodiques (queue de prothèse de hanche par exemple) entraînent également une usure qui affecte généralement le revêtement céramique de la prothèse métallique et peut conduire à une inflammation qui accélère le processus de dégradation.

#### Dégradation physico-chimique

Les fluides biologiques sont sursaturés par rapport au minéral osseux, mais la présence d'inhibiteurs de cristallisation des phosphates de calcium permet généralement d'éviter des calcifications incontrôlées. De plus, ces fluides peuvent se révéler particulièrement corrosifs. Suite à une intervention chirurgicale, ils peuvent localement présenter des pH très acides et contenir des radicaux oxydants (peroxyde et superoxyde). Ces conditions peuvent entraîner la biodégradation accélérée de l'implant dans les premiers jours après l'intervention. Certaines biocéramiques sont parfois constituées de plusieurs phases de solubilités différentes (c'est le cas par exemple des céramiques de phosphates de calcium biphasiques, TCP

Tableau II - Les phosphates de calcium et leurs applications en tant que biomatériaux [24].

Nom et formule chimique	Abréviation	Type de matériaux et utilisation
Hydroxyapatite Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	HAP	Céramiques, dépôt plasma, composites, support de médicaments
Apatite non stœchiométrique	ns-HAP	Dépôt à basse température, composites, support de médicaments
α et β phosphate tricalcique Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	α et β TCP	Céramiques, composites, ciments, dépôt plasma, support de médicaments
Phosphate dicalcique dihydraté CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	DCPD	Ciments
Phosphate dicalcique anhydre CaHPO <sub>4</sub>	D CPA	Ciments
Phosphate octocalcique Ca <sub>8</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·5H <sub>2</sub> O	OCP	Ciments
Phosphate tétracalcique Ca <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> O	TTCP	Ciments
Phosphate de calcium amorphe	ACP	Ciments, support de médicaments, dépôt à basse température



et HA) et des transferts de matière peuvent se produire conduisant éventuellement à une dégradation accélérée. Certains constituants instables peuvent aussi s'altérer en milieu biologique pour donner des phases plus stables, c'est le cas par exemple des carbonates de calcium ou de certains phosphates tels que le DCPD qui peuvent se transformer partiellement ou totalement en apatite.

### Dégradation cellulaire

La dégradation cellulaire intervient inévitablement du fait de l'action des cellules chargées de défendre l'intégrité corporelle face à l'introduction d'un corps étranger. Plusieures cellules sont impliquées dans la dégradation du biomatériau. Parmi elles, les macrophages et les cellules géantes multinucléées analogues aux ostéoclastes ont un rôle important. Un certain nombre de céramiques (phosphates et carbonates de calcium notamment) induisent un comportement cellulaire analogue à celui observé lors du remodelage osseux. Des cellules géantes multinucléées, analogues aux ostéoclastes, se fixent à la surface de l'implant et produisent des poches de résorption. Ces cellules génèrent des pH acides et globalement la dégradation d'une céramique paraît liée à ses propriétés de dissolution en milieu acide. Dans le cas de céramiques biphasiques, la biorésorption peut être modulée en fonction du rapport des phases. Par ailleurs, une étude a montré que la taille de l'implant pouvait avoir une influence sur la vitesse de résorption du matériau et sur la vitesse de formation de l'os nouveau [22].

### Biomimétisme et biodégradation

De nombreux tissus, et en particulier le tissu osseux, subissent un renouvellement périodique pendant toute la durée de vie d'un individu (remodelage osseux) et l'organisme a appris à gérer les métabolites issus de cette activité. La biodégradation d'un corps étranger peut induire des métabolites que l'organisme n'a pas l'habitude de réguler, ou au contraire saturer les systèmes de régulation existants. Un premier exemple est donné par certains bioverres qui sont bioactifs et se lient fortement à l'os. La dégradation partielle ou totale de ces implants conduit à la libération de silicates qui ne sont pas un métabolite naturel des mammifères. Bien que ces silicates soient éliminés dans les urines, on peut se poser la question des perturbations qu'ils sont susceptibles d'induire dans l'organisme. Le deuxième exemple est fourni par les acides polylactiques. Ces matériaux se dégradent en acide lactique qui est un métabolite naturel. Cependant, cette dégradation se produit selon des modes purement physico-chimiques qui ne sont pas sous le contrôle de l'organisme et certains implants de grande dimension peuvent conduire à une libération massive de métabolites que l'organisme ne peut pas gérer. Il est donc souhaitable, même lorsque la biodégradation conduit à des métabolites naturels, qu'elle reste sous le contrôle de l'organisme, c'est-à-dire qu'elle soit liée à l'activité cellulaire.

### Réactions inflammatoires

Quelle que soit la nature des biocéramiques, le risque inflammatoire est toujours présent. L'origine des réactions inflammatoires peut être diverse selon la composition chimique, les propriétés mécaniques, la taille et la localisation de la céramique implantée. Le risque le plus important est lié à la production de débris dus à la dégradation du matériau.

Quelle que soit leur nature, les particules insolubles issues de la dégradation chimique, mécanique ou cellulaire de la céramique sont susceptibles de provoquer des réactions inflammatoires. Dans le cas de phosphates de calcium, il semble que l'intensité de la réaction inflammatoire soit liée à la taille des cristaux ou plus particulièrement à la surface spécifique des grains, et la réaction inflammatoire est d'autant plus importante que la taille des particules est faible [23]. Cependant, d'autres paramètres relatifs à la céramique sont impliqués dans le phénomène inflammatoire (composition chimique, cristallinité, morphologie des cristaux, composition de la surface, protéines adsorbées). Les petites particules vont pouvoir être phagocytées par les cellules pour être dégradées, si possible.

### Influence de certains éléments traces

De nombreux éléments traces qui entrent dans la composition d'une biocéramique à l'état d'élément constitutif ou d'impureté peuvent apparaître toxiques vis-à-vis du tissu osseux. Le seuil de toxicité est différent selon l'élément trace considéré et bien que très peu d'études aient porté sur la toxicité d'éléments traces liés aux implants, les effets biologiques de certains de ces éléments sont connus et répertoriés [24]. Les toxicités de l'aluminium, du plomb, de l'arsenic, du mercure et du cadmium sont bien documentées, mais elles ont été déterminées lors d'études concernant le plus souvent les éléments traces ingérés dans l'alimentation. La solubilité des phases constituant la céramique et leur réactivité dans le milieu biologique déterminent la biodisponibilité des éléments traces dans les implants, qu'ils soient toxiques ou bénéfiques. Ainsi, les céramiques à base d'alumine alpha, très stable et très insoluble, sont utilisées depuis longtemps sans problème malgré l'effet néfaste de l'aluminium sur la minéralisation des tissus durs. A l'opposé, des travaux sur une céramique composite TCP (dopé au Zn) et hydroxyapatite montrent que la libération de Zn à la surface de la céramique favorise la différenciation ostéogénique des cellules humaines [25]. Signalons par ailleurs que les traitements thermiques opérés lors de la préparation de la céramique peuvent favoriser la ségrégation de certaines impuretés aux joints de grains ou à la surface et accroître ainsi la biodisponibilité des éléments traces.

### Exemples

Dans ce paragraphe, nous nous limiterons aux principales formes de biocéramiques choisies en fonction de l'application visée, en sachant qu'il en existe encore d'autres types (matériaux naturels, bioverres...).

#### Céramiques poreuses

La porosité d'une céramique est une caractéristique importante pour permettre la réhabitation cellulaire et la vascularisation de l'implant. Les procédés utilisés pour créer cette porosité peuvent être divers. On distingue les céramiques poreuses obtenues à partir de réactifs de synthèse et celles d'origine biologique. Dans le premier cas, la porosité peut être créée à l'aide d'un agent porogène qui est généralement une substance organique calibrée sous forme de billes (naphtalène, polystyrène) qui va créer la macroporosité lors du chauffage des poudres. Le diamètre des macropores dépend de la dimension des billes de l'agent porogène.

Tableau III - Composition des ciments biomimétiques à base de phosphates de calcium [31].

Ciments acide-base		
Composition	Produit final	Références
TTCP et DCPD CaCO <sub>3</sub> + MCPM et α-TCP TTCP + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> et α-TCP Ca(OH) <sub>2</sub> ou TTCP et OCP	Hydroxyapatite (Bonesource <sup>®</sup> ) Apatite carbonatée (SRS <sup>®</sup> ) Apatite mal cristallisée (Cementek <sup>®</sup> ) Apatite mal cristallisée	Brown 1987 [38] Constantz 1995 [39] Hatim 1998 [40] de Maeyer 2000 [41]
Ciments à base d'un seul composé		
Composition	Produit final	Références
CaP amorphe  α-TCP	Apatite carbonatée (Biobon <sup>®</sup> et α-BSM <sup>®</sup> )	Lee 1996 [42]  Ginebra 1997 [43], Kon 1998 [44], Dos Santos 1999 [45]
Ciments avec phase hydrolysable		
Composition	Produit final	Références
β-TCP et MCPM	DCPD évoluant vers une apatite mal cristallisée	Mirtchi 1989 [46]

En ce qui concerne les céramiques poreuses d'origine biologique, elles résultent du traitement thermique de structures biologiques poreuses (os par exemple) qui conduit à la destruction de la matrice organique et à la céramisation du squelette minéral.

Toutes ces voies d'élaboration nécessitent un traitement thermique à des températures élevées. Cependant, une approche biomimétique de l'élaboration de céramiques se développe. Elle vise à imiter les processus naturels et biologiques et implique l'utilisation de températures relativement basses (température ambiante) dans le procédé d'élaboration. De ce fait, il est possible d'envisager l'ajout de protéines et/ou de molécules biologiquement actives (facteurs de croissance, antibiotiques...).

Les propriétés mécaniques de l'ensemble de ces céramiques poreuses restent médiocres pour une utilisation dans des zones où les contraintes mécaniques sont élevées.

### Dépôts

Les dépôts sont utilisés pour améliorer la liaison implant-tissu. Ils sont généralement développés sur des prothèses métalliques mais ils peuvent aussi recouvrir des céramiques ou des polymères. La technique de dépôts la plus couramment utilisée pour les biomatériaux est la projection plasma, mais elle se révèle inutilisable lorsqu'il s'agit de réaliser un dépôt sur une surface complexe et/ou à l'intérieur d'un matériau poreux, ou encore pour déposer un composé incluant des molécules biologiques telles que des facteurs de croissance ou des antibiotiques [26]. De ce fait, plusieurs groupes de recherche se sont intéressés à la mise au point de procédés biomimétiques de dépôts à température ambiante [27]. Ces dépôts sont produits lors d'un processus de précipitation à partir de solutions dont la composition en ions inorganiques est analogue à celle des fluides biologiques. Le dépôt biomimétique consiste en la formation d'une couche d'apatite analogue au minéral osseux à la surface d'un substrat en immergeant ce dernier dans une solution sursaturée en ions calcium et phosphate. C'est Kokubo *et al.* qui les premiers ont introduit le concept d'une solution analogue aux fluides biologiques en préparant une solution SBF (« simulated body fluid ») [28]. Plus tard, bien d'autres solutions ont été développées [29]. Ces solutions diffèrent essentiellement au niveau de leur teneur en ions carbonate, calcium, hydrogénophosphate, magnésium et sulfate. Récemment, Kim *et al.* ont révisé la composition de la solution SBF au niveau de sa

concentration en ions carbonate de manière à travailler dans un milieu encore plus proche des fluides biologiques [30].

### Ciments

Plusieurs ciments biomimétiques à base de phosphates de calcium sont déjà commercialisés : SRS<sup>®</sup>, Bonesource<sup>®</sup>, Cementek<sup>®</sup>, Biobon<sup>®</sup> et α-BSM<sup>®</sup> (voir *tableau III*) [31]. Ces ciments sont dits biomimétiques en raison de leur grande surface spécifique, de leur grande réactivité et de leur composition chimique proche de celle du minéral osseux. La plupart d'entre eux sont injectables et leur formulation offre des possibilités d'association avec des facteurs de croissance, des éléments trace et/ou des molécules bioactives. La mise au point de ces ciments a pour but de perturber le moins possible les propriétés et les fonctions de l'os et de disposer d'un matériau qui se comporte de manière analogue au tissu osseux.

Différents types de réaction peuvent être impliqués lors de la prise et du durcissement de ces ciments et certains conduisent à une apatite mal cristallisée analogue au minéral osseux. On peut distinguer deux principales classes de ciments biomimétiques : les ciments dont la prise résulte de la réaction entre deux phosphates de calcium, l'un acide et l'autre basique, et les ciments résultant de l'hydrolyse rapide d'un phosphate de calcium métastable en apatite. Parfois, les deux types de réaction peuvent être impliqués. Enfin, on peut citer l'existence d'une troisième classe de ciments avec formation de phosphates de calcium instables à pH physiologique, en particulier le DCPD, et qui s'hydrolyse par la suite progressivement en apatite (voir *tableau III*).

C'est le produit final et en particulier la stœchiométrie et la cristallinité de la phase apatitique qui conditionnent la capacité de résorption et les propriétés mécaniques du ciment. Comme pour tout matériau poreux, c'est la porosité finale du ciment, étroitement liée au rapport massique de la phase liquide sur la phase solide dans la pâte initiale, qui influe sur ses propriétés mécaniques. Ces dernières sont en général faibles (résistance en compression comprise entre 5 et 80 MPa) et n'autorisent pas l'utilisation de ces ciments biomimétiques dans des zones où les contraintes mécaniques de charge sont fortes.

### Composites

L'utilisation de phosphates de calcium dans des matériaux composites minéral-organique va pouvoir conférer à ces

matériaux des propriétés bioactives et également des propriétés mécaniques qui sont plus proches de celles de l'os que dans le cas de céramiques uniquement à base de phosphates de calcium. Divers systèmes résorbables (polymère biorésorbable et phosphate de calcium résorbable ou non) ou non résorbables (polymères et phosphates de calcium non résorbables) ont été étudiés.

L'association de polymères ou de protéines avec l'apatite peut présenter l'avantage de se rapprocher de la composition et des propriétés mécaniques de l'os. Généralement, les matériaux composites céramique-polymère sont obtenus par des techniques classiques de mélange des constituants, mais d'autres méthodes ont également émergées en s'inspirant des modes de calcification des tissus durs : c'est le cas de la minéralisation de matrices organiques organisées comportant de nombreux sites favorables à la germination de phosphates de calcium après un traitement de phosphatation ou de silanation. Par ailleurs, on peut citer la mise au point de composites injectables à base d'hydroxyméthylcellulose durcissant *in situ* [32].

Des associations protéine-phosphates de calcium ont été réalisées selon un processus biomimétique à basse température et en suspension aqueuse. Les protéines choisies (caséine, albumine, etc.) présentent une affinité vis-à-vis de la surface des phosphates de calcium. Parmi ceux-ci, le phosphate de calcium choisi est une apatite nanocristalline et l'évaporation de l'eau de la suspension protéine-phosphate de calcium donne un solide faiblement poreux mais avec des propriétés mécaniques encore relativement faibles par rapport à celles de l'os [33].

### Ingénierie tissulaire

L'ingénierie tissulaire est apparue récemment comme une approche très prometteuse dans la conception de biocéramiques pour la reconstruction osseuse. Elle est basée sur la culture de tissu osseux artificiel grâce à la multiplication de cellules ostéoblastiques, produites généralement à partir de cellules de moelle osseuse prélevée par biopsie, qui vont servir à ensemercer une matrice hôte (céramique poreuse) [34]. La culture cellulaire à la surface du composite « cellules-céramique » ainsi formé est réalisée *in vitro* quelques jours ou semaines avant l'implantation. Une fois implanté, le réseau hôte sert temporairement de support mécanique et oriente la croissance des ostéoblastes ainsi que la formation de l'os nouveau.

Par conséquent, cette matrice hôte doit présenter certaines propriétés et en particulier, elle doit être biocompatible et biorésorbable avec une vitesse de dégradation contrôlée par rapport à la vitesse de formation de l'os nouveau [35]. Une porosité élevée est aussi nécessaire de manière à favoriser la fixation et l'intégration de l'implant et surtout son « envahissement » par l'os nouveau [36]. Par ailleurs, il semble que la forme, l'architecture de la porosité et la morphologie des pores de la matrice hôte soient des paramètres importants.

Dans la littérature, on trouve de nombreux travaux sur des supports poreux à base de phosphates ou de carbonates de calcium (HA, HA/TCP, corail), mais également sur des composites phosphates de calcium-protéine ou polymère (HA-collagène, cellulose, polyéthylène, polysaccharides...) [37].

Outre la présence de cellules ostéoblastes, on peut également envisager de fixer à la surface de ces matrices hôte des molécules biologiquement actives tels des facteurs

ou des hormones de croissance qui sont susceptibles d'agir localement en régulant la formation de l'os par stimulation de la prolifération et de la différenciation des ostéoblastes.

### Conclusion

Parmi l'ensemble des céramiques actuellement développées, plusieurs problèmes ont été identifiés et se posent encore, en particulier en ce qui concerne les vitesses de résorption et les propriétés mécaniques.

Les biocéramiques présentent en général une résistance en compression acceptable, mais des progrès sont à réaliser en particulier au niveau de la résistance en flexion et en torsion et d'autant plus si elles sont macroporeuses. Parmi les différents exemples présentés, nous avons vu que l'obtention d'un matériau poreux est souhaitable pour la réhabilitation cellulaire, pour la vascularisation et pour améliorer les capacités de résorption de l'implant. Cependant, une porosité élevée est préjudiciable vis-à-vis des propriétés mécaniques.

La vitesse de résorption peut varier considérablement (de 12 semaines à plus de deux ans dans le cas des ciments) et bien que ces résultats soient issus d'études sur différents animaux et dans des sites d'implantation différents, il semble que certaines caractéristiques (composition, porosité, présence d'environnements labiles non apatitiques) aient un effet sur la vitesse de dégradation. Par exemple, selon que l'on pratique une chirurgie crânienne ou orthopédique, on va rechercher une vitesse de résorption plus ou moins lente respectivement, d'où la nécessité d'adapter la formulation des biocéramiques en fonction de la vitesse de résorption souhaitée et donc de l'application visée.

Bien qu'il y ait quelques risques de réactions inflammatoires dues à la formation de débris pouvant résulter de la résorption plus ou moins rapide des divers composants en milieu biologique, les matériaux composites minéral-organique devraient se développer dans l'avenir en raison des nombreuses possibilités d'association et de leur potentialité à combiner une activité biologique et des propriétés mécaniques qui se rapprochent de celles de l'os. Cependant, même avec les récents progrès en matière d'ingénierie tissulaire, le matériau biomimétique idéal reste encore à inventer...

### Références

- [1] Lowenstam H.A., *Science*, **1981**, 211, p. 1126.
- [2] MacConnel D., *Apatite, Its Crystal Chemistry, Mineralogy, Utilization, and Geologic and Biologic Occurrences*, New York, Spinger-Verlag, **1973**.
- [3] Heughebaert J.-C., Montel G., Conversion of amorphous tricalciumphosphate into apatitic tricalcium phosphate, *Calcif. Tissue Int.*, **1982**, 34, p. 103.
- [4] Montel G., Bonel G., Heughebaert J.-C., Trombe J.-C., Rey C., *J. Cryst. Growth*, **1981**, 53, p. 74.
- [5] Lacout J.-L., thèse d'état, INPT, Toulouse, **1983**.
- [6] Bonel G., *Ann. Chim. Fr.*, **1972**, 7, pp. 65 et 127.
- [7] Vignoles-Montrejaud M., thèse d'état, INPT, Toulouse, **1984**.
- [8] Legeros R., *Calcium Phosphates in oral biology and medicine*, Karger, Basel, **1991**.
- [9] Rey C., Shimizu M., Collins B., Glimcher G., *Calcif. Tissue Int.*, **1990**, 46, p. 384.
- [10] Mathew M., Brown W.E., Schroeder L.W., Dickens B., *J. Cryst. Spect. Res.*, **1988**, 8, p. 235.
- [11] Brown W., Schroeder L., Ferris J., Interlayering of octacalcium phosphate and hydroxyapatite, *J. Physic. Chem.*, **1979**, 83(11), p. 1385.
- [12] Hina A., thèse de doctorat, INPT, Toulouse, **1996**.
- [13] Cazalbou S., thèse de doctorat, INPT, Toulouse, **2000**.
- [14] Rey C., Strawich E., Glimcher M.J., *Bull. Inst. Océanographique de Monaco*, numéro spécial, **1994**, 14(1), p. 55.
- [15] Midy V., Rey C., Brès E., Dard M., *J. Biomed. Mater. Res.*, **1998**, p. 405.
- [16] Ouizat S., Barrou A., Legrouri A., Rey C., *Mat. Research Bull.*, **2000**, 34, p. 2279.

- [17] Hollis J.M., Hofmann O.E., Stewart C.L., Flahiff C.M., Nelson C., *Fourth World Biomaterials Congress*, Berlin, **1992**, p. 258.
- [18] Pilliar R., Deporter D., Watson P., *Materials in clinical applications*, vol. 12, P. Vincenzini (ed.), Faenza Techna, **1995**, p. 569.
- [19] Bonfield W., Lublinska Z.B., *The Bone-Biomaterial Interface*, J.E. Davies (ed.), Toronto University Press, **1991**, p. 89.
- [20] Magan A., Ripamonti U., *J. Craniofacial Surg.*, **1996**, 7, p. 71.
- [21] Simmons C.A., Meguid S.A., Pilliar R.M., *J. Orthop. Res.*, **2001**, 19, p. 187.
- [22] Flautre B., Delecourt C., Blary M.C., Van Landuyt, Lemaître J., Hardouin P., *Bone*, **1999**, 25, p. 35S.
- [23] Prudhommeaux F., Schiltz C., Lioté A., Hina A., Champy R., Bucki B., Ortiz-Bravo E., Meunier A., Rey C., Bardin T., *Arth and Rheum*, **1996**, 39, p. 1319.
- [24] Combes C., Rey C., *Propriétés et Applications des Céramiques*, P. Boch (éd.), Hermès Science Publications, **2001**, p. 245.
- [25] Ikeuchi M., Dohi Y., Ohgushi H., Noshi T., Horiuchi K., Yamamoto K., Sugimura M., Ito A., *Bioceramics*, vol. 13, S. Giannini, A. Moroni (eds), Trans Tech Publications Ltd, **2001**, p. 503.
- [26] Ranz X., thèse de doctorat, INP, Toulouse, **1996**.
- [27] De Groot K., Leitao E., *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Symposium on Inorganic Phosphate Materials*, *Phosphorus Research Bulletin*, **1996**, 6, p. 71.
- [28] Kokubo T., Hata K., Nakamura T., Yamamuro T., *Bioceramics*, vol. 4, W. Bonfield, G.W. Hastings, K.E. Tanner (eds), Butterworth-Heinemann Ltd, **1991**, p. 113.
- [29] Wen H.B., Fincham G., Moradian-Oldak J., De Groot K., *Recent Res. Devel. Crystal Growth Res.*, **1999**, 1, p. 51.
- [30] Kim H.M., Miyazaki T., Kokubo T., Nakamura T., *Bioceramics*, vol. 13, S. Giannini, A. Moroni (eds), Trans Tech Publications Ltd, **2001**, p. 47.
- [31] Rey C., Tofighi A., Mounic S., Combes C., Lee D., *Actualités en Biomatériaux*, vol. VI, D. Mainard, J.-P. Louis (éds), Romillat, Paris, **2002**, p. 27.
- [32] Weiss P.J., thèse de doctorat, Université de Nantes, **1997**.
- [33] Sarda S., Tofighi A., Hobatho M.C., Lee D., Rey C., *Phosphorus Res. Bull.*, **1999**, 10, p. 208.
- [34] Frayssinet P., Mathon D., Rouquet N., *Bioceramics*, vol. 13, S. Giannini, A. Moroni (eds), Trans Tech Publications Ltd, **2001**, p. 471.
- [35] Fu S., Yoshikawa T., Hibino Y., Yamada Y., Niimi A., Honda M., Okazaki Y., Hata K., Ueda M., *Bioceramics*, vol. 13, S. Giannini, A. Moroni (eds), Trans Tech Publications Ltd, **2001**, p. 491.
- [36] Martinetti R., Belpassi A., Nataloni A., Piconi C., *Bioceramics*, vol. 13, S. Giannini, A. Moroni (eds), Trans Tech Publications Ltd, **2001**, p. 507.
- [37] Petite H., Viatteau V., Bensaid W., Meunier A., De Pollak C., Bourguignon M., Oudina K., Sedel L., Guillemin G., *Nature Technology*, **2000**, 18(9), p. 959.
- [38] Brown W.E., Chow L.C., *Cements Research Progress 1986*, P.W. Brown (ed.), Westerville OH, The Am. Ceram. Soc., **1987**, p. 352.
- [39] Constantz B.R., Ison I.C., Fulmer M.T., Poser R.D., Smith S.T., VanWagoner M., Ross J., Goldstein S.A., Jupiter J.B., Rosenthal D.I., *Science*, **1995**, 267, p. 1796.
- [40] Hatim Z., Frèche M., Kheribech A., Lacout J.-L., *Ann Chim. Sci. Mat.*, **1998**, 23, p. 65.
- [41] De Maeyer E.A., Verbeeck R.M., Vercruyse C.W., *J. Biomed. Mater. Res.*, **2000**, 52, p. 95.
- [42] Lee D., Rey C., Aioloiva M., US patent 08/729, 344, **1996**.
- [43] Ginebra M.P., Fernandez E., De Maeyer E.A., Verbeeck R.M., Boltong M.G., Ginebra J., Driessens F.C., Planell J.A., *J. Dent. Res.*, **1997**, 76, p. 905.
- [44] Kon M., Miyamoto Y., Asaoka K., Ishikawa K., Lee H.H., *Dent. Mater. J.*, **1998**, 17, p. 223.
- [45] Dos Santos L.A., De Oliveira L.C., Rigo E.C., Carrodeguaes R.G., Boschi A.O., De Arruda A.C., *Bone*, **1999**, 25, p. 99S.
- [46] Mirtchi A.A., Lemaître J., Terao N., *Biomaterials*, **1989**, 10, p. 475.



C. Combes



C. Rey

**Christèle Combes<sup>1</sup>**

est maître de conférences à l'École Nationale Supérieure d'Ingénieurs en Arts Chimiques et Technologiques de Toulouse\*.

**Rey Christian<sup>2</sup>**

est professeur dans cette même école.

\* ENSIACET, 118 route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex 04.

<sup>1</sup> Tél. : 05 62 88 56 74. Fax : 05 62 88 57 73.

E-mail : ccombes@cict.fr

<sup>2</sup> Tél. : 05 62 88 58 70. Fax : 05 62 88 57 73.

E-mail : Christian.Rey@ensiacet.fr

Depuis 1988...



...Expérience, la Différence.

Les Editions D'Ile de France

Régisseur exclusif de la revue  
**L'Actualité Chimique**

Pour passer une publicité dans cette revue contactez Albert EDERY au 01.43.53.64.03

EDIF sur le Web :

[www.edif.fr](http://www.edif.fr)

E-mail : [edition@edif.fr](mailto:edition@edif.fr)

102, avenue Georges Clemenceau

94700 Maisons-Alfort

FRANCE

Tél : 33.1.43.53.64.00

Fax : 33.1.43.53.48.00

# Le tissu osseux

## Sollicitations mécaniques et remodelage

Alain Meunier

### Summary **Bone tissue. Mechanical stresses and remodelling**

Bone is a living composite material that can adapt its structure and geometry to its mechanical environment. Bone remodelling is a multicellular phenomenon that permits this adaptation as well as repair of micro-damages. This brief presentation is an attempt to describe how mechanical stresses as well as the presence of damages within the bone matrix may trigger bone remodelling and induce an auto-repair process.

### Mots-clés

**Os cortical, cellules osseuses, remodelage osseux, mécanotransduction cellulaire, micro-défauts.**

### Key-words

**Cortical bone, bone cells, bone remodeling, cell mechanotransduction, micro-damages.**

Depuis plus d'un siècle et les travaux précurseurs de Roux et de Wolff, l'adaptation du tissu osseux aux sollicitations mécaniques physiologiques est un phénomène bien décrit. Cependant, les différentes interactions entre les paramètres biologiques et mécaniques impliqués dans ce remodelage adaptatif sont encore mal comprises.

Le tissu osseux adapte sa structure et sa géométrie aux contraintes mécaniques et ceci au niveau d'un segment osseux complet. Ce simple constat pose un problème d'échelle : les sollicitations mécaniques sont appliquées à un os dans sa globalité. Celui-ci est un matériau composite poreux. Pour cette raison, à l'échelle de quelques microns, les sollicitations mécaniques réelles observées dans un voisinage cellulaire sont complètement différentes de celles existant à un niveau de structure supérieur. Se pose alors la question : par quel mécanisme les sollicitations mécaniques macroscopiques sont-elles détectées par les cellules réceptrices, celles-ci étant soumises localement à un environnement mécanique quasiment aléatoire ?

### Rappels : le tissu cortical en tant que composite multi-échelle vivant

#### Aspect structural

L'os cortical humain est constitué de 63 % en masse de matériau inorganique (principalement de l'hydroxyapatite carbonatée), la partie organique étant principalement du collagène de type I (99 %).

A faible grossissement, le tissu osseux cortical humain apparaît comme un matériau constitué de fibres (ostéons) incluses dans une matrice (structure haversienne). Ces fibres (environ 200 µm de diamètre) sont orientées globalement selon l'axe longitudinal du segment osseux considéré. Ces fibres sont creuses (canaux de Havers) et parfois interconnectées entre elles par des canaux de Volkmann.

La matrice est constituée d'anciennes fibres plus minéralisées. La jonction entre fibre et matrice s'appelle la ligne cémentante. Elle est riche en polysaccharides et est

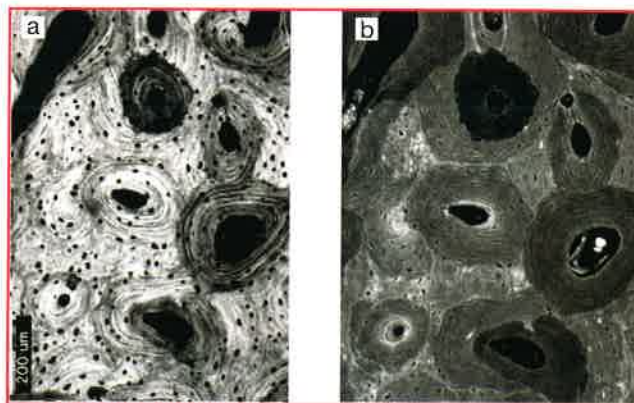


Figure 1 - **Microstructure haversienne.**

a : Microscopie acoustique – 600 MHz – hétérogénéité des propriétés élastiques.

b : Microscopie électronique – électrons rétrodiffusés – hétérogénéité du contenu minéral local.

très peu rigide. Pour cette raison, les ostéons sont faiblement adhérents à la matrice.

A plus fort grossissement, chacune de ces fibres est constituée de lamelles concentriques. On observe, au sein de ces lamelles, des lacunes qui correspondent à la localisation de certaines cellules osseuses : les ostéocytes.

A une échelle supérieure, chacune de ces lamelles est constituée de fibres orientées de collagène. Chaque lamelle possède une orientation unique de fibres, deux lamelles consécutives ayant des orientations de fibres différentes.

Enfin, à l'échelle moléculaire, ces fibres de collagène sont intimement liées à des cristaux d'hydroxyapatite.

Cette organisation structurale confère au matériau des propriétés élastiques anisotropes de type isotrope transverse : le module d'Young longitudinal est environ 50 % supérieur aux modules radiaux et transversaux. Il faut également noter que le tissu osseux est très hétérogène au niveau de la distribution des propriétés élastiques locales

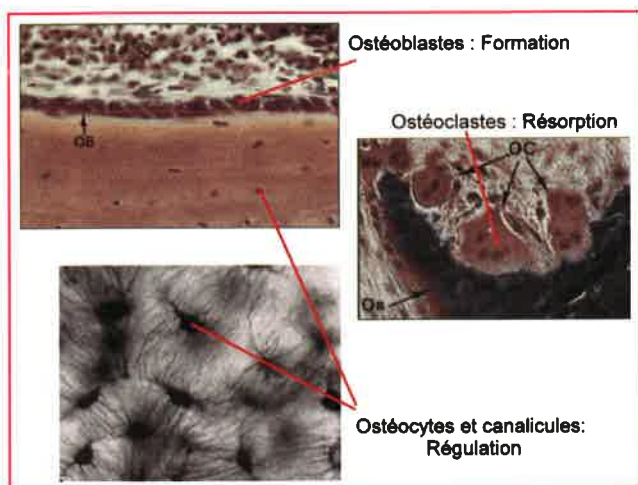


Figure 2 - Les cellules osseuses.

(figure 1a) et du contenu minéral (figure 1b). De ce fait, l'environnement mécanique à l'échelle du micron (échelle cellulaire) est très différent de celui observé au niveau macroscopique.

### Aspect cellulaire

Trois types cellulaires sont présents dans le tissu osseux (figure 2) :

#### 1- Les ostéoblastes

Ces cellules mononucléées ont pour origine la partie stromale de la moelle osseuse. Elles assurent la formation du tissu osseux en sécrétant une matrice extracellulaire appelée ostéoïde. La présence de protéines dans cette matrice va favoriser localement la nucléation de cristaux apatitiques au sein de cette matrice : l'ostéoïde se transforme en tissu mature. Lorsque ces cellules sont inactives, elles couvrent l'ensemble de la surface libre du tissu osseux et sont alors des cellules bordantes.

#### 2- Les ostéocytes

Certains ostéoblastes, au cours de la production de la matrice extracellulaire, vont se retrouver piégés dans cette matrice et devenir des ostéocytes. Tous les ostéocytes d'un même ostéon sont interconnectés par des canalicules. Les ostéocytes forment donc un réseau dont le rôle n'est pas totalement élucidé mais qui participe à la régulation du remodelage osseux.

#### 3- Les ostéoclastes

Enfin, les ostéoclastes sont des cellules multinucléées provenant de la partie hématopoïétique de la moelle osseuse. Leur rôle est la destruction du tissu osseux.

### Le remodelage osseux

Les ostéoblastes et les ostéoclastes participent au renouvellement permanent du tissu osseux. On considère qu'il faut environ 5 ans pour remplacer totalement l'os spongieux et une dizaine d'année pour l'os cortical. Les ostéoclastes et les ostéoblastes travaillent d'une manière conjointe sous la forme d'unités de base multicellulaire (BMU : « basic multicellular unit »). Les ostéoclastes résorbent un environnement osseux et percent une cavité. Ils

progressent dans leur résorption et sont suivis, quelques jours après, par les ostéoblastes qui « murent » cette cavité par couches successives. Une coupe du tissu en remodelage va donc donner des images différentes suivant la profondeur de la cavité. Si la coupe est réalisée au niveau de la résorption, on pourra observer une cavité crénelée. Par contre, si la coupe est réalisée à distance de cette zone, on pourra alors observer un ostéon en formation avec ses lamelles concentriques (figure 3). La structure haversienne en fibre creuse à couches multiples n'existe que par ce processus de résorption/apposition couplées et cette structure est la seule possible. Pour des espèces animales ayant une structure corticale initiale différente (par exemple, les bovins jeunes ont une structure osseuse constituée d'épaisses lamelles concentriques), le remodelage au cours du temps va transformer cette structure initiale en structure haversienne.

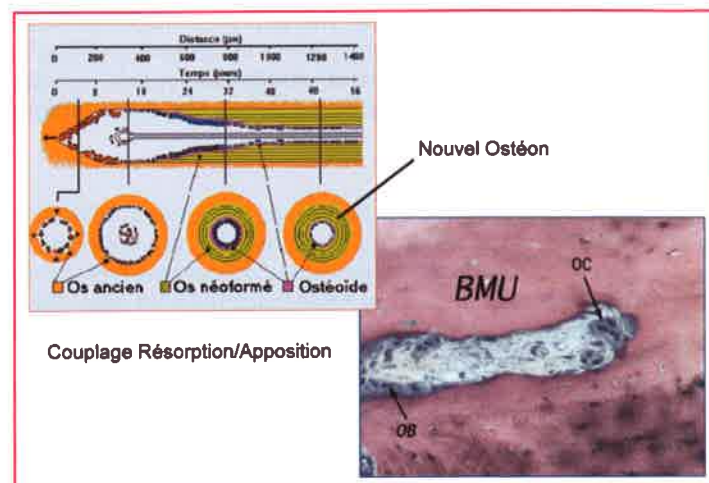


Figure 3 - Unité de base multicellulaire BMU. OB : ostéoblastes ; OC : ostéoclastes.

L'intérêt que les chercheurs ont porté au remodelage osseux vient du fait qu'il est, dans une certaine mesure, adaptatif. Grâce à ce processus, l'os modifie en permanence sa structure et sa géométrie pour s'adapter à l'environnement mécanique physiologique. Par exemple, la mise en place d'un implant orthopédique peut induire des modifications des tissus osseux environnants qui sont susceptibles, à long terme, de modifier l'interface os/implant et d'induire un échec clinique.

Les lois qui gèrent ce phénomène ont fait l'objet de très nombreux travaux et nous allons, dans la suite de cet exposé, tenter de faire le point sur les connaissances actuelles.

### Études *in vivo* du remodelage

De nombreuses études *in vivo* ont démontré le concept du remodelage osseux adaptatif. Il n'est pas possible dans un exposé aussi bref de les décrire toutes. Cependant, les conclusions générales sont claires (tout au moins pour l'os cortical) et peuvent être résumées comme suit :

1- *In vivo*, quelle que soit l'espèce animale ou l'activité physiologique considérée, les sollicitations mécaniques maximales mesurées sont toujours comprises dans un domaine étroit allant de 2 000 à 3 500 microdéformations.

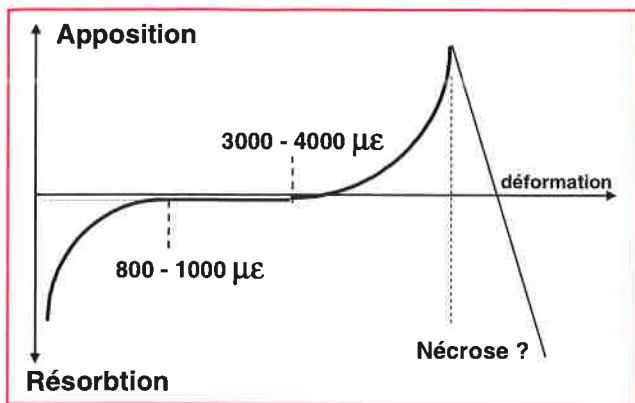


Figure 4 - Fenêtre admissible de déformation (« Lazy zone »).

2- En-dessous de 1 000 microdéformations, la résorption l'emporte sur l'apposition.

3- Au-delà de 4 000 microdéformations, il y a augmentation de la masse osseuse.

Ces trois données ont conduit au concept, développé par Lanyon et Goodsmith, de la fenêtre admissible de déformation (figure 4), concept qui a beaucoup été utilisé (sous des formes variées) dans les modèles numériques permettant de prédire le remodelage autour de prothèses implantées.

4- Certains travaux ont montré que ces phénomènes n'existent que si les sollicitations sont cycliques : une sollicitation mécanique statique ne produit pas ces effets.

5- Le nombre de cycles mécaniques appliqués qui induit un remodelage osseux est limité : au-delà d'un seuil relativement faible, appliquer un surplus de sollicitations n'induit plus de modification du remodelage osseux.

## Les différentes hypothèses du remodelage

### Hypothèse élastique et poroélastique

Le tissu osseux, qu'il soit spongieux ou cortical, est constitué d'une phase solide poreuse dont les porosités sont complètement remplies par un fluide. Dans le cadre de sollicitations mécaniques transitoires intervenant *in vivo*, il est indispensable de considérer non seulement le comportement mécanique de la structure solide, mais aussi les interactions entre cette structure et les fluides qu'elle contient (approche poroélastique). Soumis à une sollicitation transitoire en compression, ce matériau va évoluer en plusieurs étapes. Dans un premier temps, la partie solide tend à se déformer et donc à diminuer de volume. Le liquide présent dans les porosités est, en revanche, incompressible. Il va donc s'opposer au changement de volume global et migrer des zones en compression vers les zones en tension où, au contraire, le volume de la structure tend à augmenter. Cependant, ce mouvement des fluides est contrarié par la taille et la longueur moyenne des porosités de la structure ou la viscosité du fluide. Plus la viscosité est élevée (et plus la taille des pores est faible) et plus le fluide sera freiné. Il existe donc une compétition entre le changement de volume imposé par la sollicitation mécanique et la vitesse maximale

de déplacement des fluides (phase de consolidation). Pendant cette période transitoire, on peut donc observer un pic de pression dans le fluide associé à un déplacement de ce dernier des zones d'hyperpression aux zones d'hypopression. Ce mouvement de fluide induit des efforts de cisaillement à l'interface fluide/solide. Lorsque la mise en charge mécanique devient stable, alors tous les fluides ont migré vers les zones permises par les changements de volume locaux, la pression transitoire a disparu et la matrice osseuse est déformée dans sa position finale. Dans le cas du tissu osseux, deux types de porosités peuvent participer à ce comportement : d'une part les « grandes » porosités (canaux de Havers et de Volkmann dans le cas d'un os cortical ou porosités intrinsèques de l'os spongieux) et d'autre part les micro-porosités correspondant aux canalicules ostéocytaires. Comme l'échelle est très différente entre ces deux types de porosités (50 µm à quelques mm pour les premières, quelques microns pour les secondes), les phénomènes de surpression et de vitesse d'écoulement des fluides ont eux aussi des ordres de grandeur très différents.

Cette approche poroélastique du tissu osseux nous permet de faire plusieurs hypothèses concernant les éventuelles cellules mécanoréceptrices.

1- Dans le cas d'une surpression (ou dépression) transitoire, les cellules pouvant percevoir ce phénomène sont :

- les cellules non adhérentes et en particulier les précurseurs des ostéoblastes et des ostéoclastes,
- les ostéoclastes en cours de résorption,
- les cellules bordantes et les ostéoblastes adhérents à la surface osseuse,
- les ostéocytes présents dans la matrice osseuse.

2- Dans le cas d'un cisaillement d'interface lié à écoulement des fluides, seuls les cellules bordantes, les ostéoblastes et les ostéocytes seront affectés par la sollicitation.

Il faut noter qu'un autre mode de transduction peut être lié au déplacement des fluides : ceux-ci sont fortement chargés électriquement. En se déplaçant, ils vont entraîner des ions et créer une différence de potentiel électrique locale. Ce phénomène est appelé « streaming potentials ». Une des hypothèses qui a longtemps été envisagée était que ces « streaming potentials » pouvaient être responsables d'une activation cellulaire locale. De plus, certaines études théoriques montrent que des phénomènes électriques pourraient intervenir au niveau des interconnexions ostéocytaires (« gap junctions »).

3- Dans le cas de la déformation finale du substrat, seules les cellules bordantes et les ostéoblastes seront sensibles au phénomène.

Toutes ces hypothèses sont à l'origine d'un très grand nombre de travaux *in vitro* dans lesquels les différentes cellules éventuellement impliquées ont été mises en culture sous chargement mécanique. Ces recherches ont montré que pratiquement toutes les cellules étudiées sont sensibles, à des degrés divers, à ces sollicitations mécaniques.

Pour résumer ces travaux, on peut schématiquement dire qu'une application de sollicitations mécaniques *in vitro* active les ostéoblastes et les ostéocytes (ces derniers étant les plus sensibles à l'application d'une sollicitation) et une inactivation des ostéoclastes *via* leurs précurseurs. Actuellement, de nombreux chercheurs considèrent que la cellule mécanotransductrice la plus probable est l'ostéocyte, grâce à l'amplification mécanique apportée par les mouvements de fluide du réseau de canalicules.

**Hypothèse de l'endommagement local (microfissures)**

Depuis de nombreuses années, la présence de microfissures dans l'os cortical ou de petits calcs de fracture dans l'os spongieux a été mise en évidence.

Cette présence systématique de défauts fracturaires est à l'origine d'une hypothèse concernant le remodelage : les microfissures observées interrompent la continuité des canalicules ostéocytaires et sont piégées par la zone peu rigide de la ligne cémentante. Cette rupture des canalicules induit l'activation des ostéoclastes qui viennent résorber la zone fissurée, une néoformation ostéoblastique comblant ensuite, par du tissu neuf, cette zone endommagée. Ce processus élimine ainsi les risques d'extension de la microfissure, pouvant aboutir à une fracture complète du segment osseux. Tout matériau soumis à des charges mécaniques cycliques élevées est susceptible d'être endommagé et d'accumuler localement des fissures qui vont se propager et amener à la ruine de la structure (rupture en fatigue). Cette loi générale s'applique à tous les matériaux, qu'ils soient artificiels ou biologiques. Si, dans le tissu osseux, un processus permet d'éliminer systématiquement les zones endommagées par du tissu neuf à une vitesse supérieure à celle nécessaire à la propagation du défaut, on peut alors comprendre pourquoi les fractures en fatigue ne sont pas un mode de rupture prédominant mais sont observées principalement dans des populations ayant une activité physique élevée.

Les travaux récents de Schaffler ont montré :

- 1- que la densité et l'interconnexion des canalicules ostéocytaires diminuent avec l'âge,
- 2- que les microfissures observées en histologie sur des spécimens âgés sont présentes uniquement dans des zones osseuses où les canalicules sont absentes.

Un travail de la même équipe portant sur le tissu osseux dans le voisinage d'un défaut (perçage dans une corticale de chien) a montré que, immédiatement après le traumatisme chirurgical, les ostéocytes au voisinage du défaut osseux entraînent dans une phase d'apoptose et que ces zones en apoptose étaient celles qui étaient ensuite soumises à un processus de remodelage. Là encore, il est possible de formuler une hypothèse : le traumatisme chirurgical, au même titre que la présence d'une microfissure, sectionne certaines liaisons ostéocytaires et induit une mort cellulaire par apoptose. Cette mort cellulaire peut permettre le relargage dans l'environnement local de molécules responsables du recrutement ostéoclastique. Cette approche d'endommagement, si elle peut intervenir au niveau d'une adaptation tissulaire sous fortes charges mécaniques cycliques, n'explique cependant pas le phénomène d'ostéoporose de non-utilisation. La disparition des tissus minéralisés en l'absence de contraintes peut s'expliquer par la première hypothèse développée dans ce résumé, à savoir un phénomène de mécanotransduction direct. Cependant, certains travaux ont mis en évidence une autre possibilité. Les ostéocytes enrobés dans la matrice osseuse, comme les chondrocytes du cartilage, n'ont pas un accès direct à la vascularisation locale. Les molécules et l'oxygène nécessaires à l'activité métabolique de ces cellules ne sont pas disponibles

directement et leur transport vers les cellules ne peut se faire par diffusion seule. L'activité mécanique et l'effet de pompage des fluides lié à cette activité mécanique sont les principaux acteurs qui permettent un métabolisme cellulaire normal. La suppression brutale de cette activité induit une hypoxie cellulaire et la surproduction d'HIF1-beta, molécule spécifique de l'hypoxie cellulaire qui est connue pour être impliquée dans l'expression de certains des gènes de l'apoptose.

**Conclusion**

Pour l'instant, nous nous trouvons donc face à deux hypothèses possibles :

- D'une part, une hypothèse que l'on peut qualifier d'élastique : c'est l'activité mécanique normale, sans rupture du matériau de soutien, qui permet la régulation du remodelage. Le paramètre mécanique prédominant (surpression locale, mouvement de fluide ou déformation du substrat) n'est pas encore complètement établi. Les cellules effectrices intègrent la sollicitation mécanique comme un paramètre supplémentaire de régulation de leur activité.

- D'autre part, une hypothèse dite « d'endommagement » pour laquelle les défauts accumulés dans le tissu sont responsables du mécanisme de remodelage.

Ces deux hypothèses ne sont cependant pas incompatibles : il est possible que les principes activateurs du remodelage osseux soient différents suivant le niveau de sollicitations appliquées et que des sous- ou sur-sollicitations très anormales (en amplitude ou durée) puissent activer de manière plus directe le remodelage.

Une schéma tentant d'intégrer ces différentes hypothèses dans la courbe de fenêtre admissible de déformation est présenté en figure 5.

De toute manière, de nombreux aspects restent encore à élucider sur le plan mécanique, que ce soit au niveau macroscopique ou à l'échelon cellulaire :

- D'une part, le couplage dans le temps et l'espace des ostéoblastes et des ostéoclastes (BMU de Frost) n'est pas complètement intégré dans les différents modèles existants.

Le processus qui guide l'orientation du remodelage dans l'espace osseux, pour réaliser par exemple des ostéons

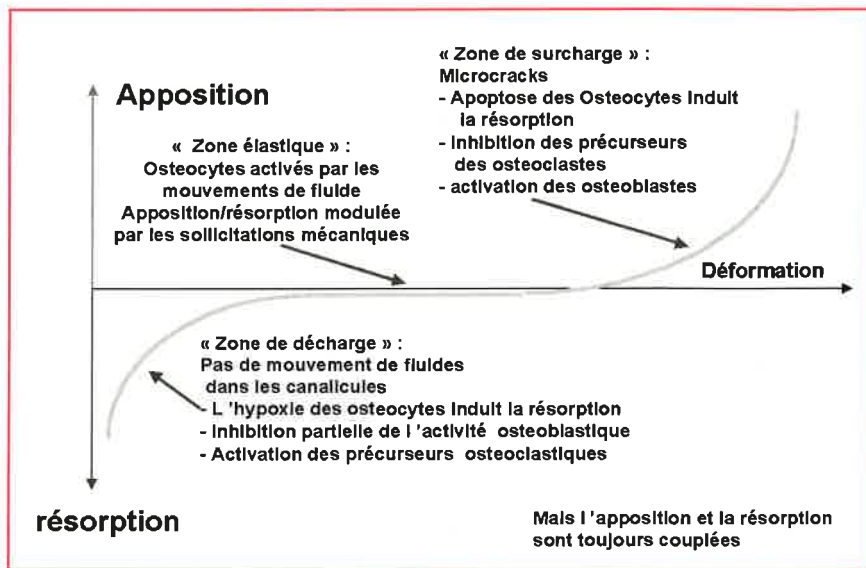


Figure 5.



principalement alignés le long des lignes de contraintes principales, n'est pas encore élucidé.

Même si de nombreux points restent encore dans l'ombre et si les recherches menées depuis plus de vingt ans dans ce domaine ont souvent apporté plus de questions que de réponses, il est vrai que les outils développés en commun par les biomécaniciens et les biologistes ont permis de faire de très grands progrès dans la connaissance du couplage entre les comportements mécanique et biologique du tissu osseux.

### Bibliographie

- [1] Duncan R.L., Turner C.H., Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain, *Calcif. Tissue Int.*, **1995**, 57(5), p. 344.
- [2] Forwood M.R., Turner C.H., Skeletal adaptations to mechanical usage: results from tibial loading studies in rats, *Bone*, **1995**, 17(4 Suppl.), p. 197S.
- [3] Lanyon L.E., Rubin C.T., Static vs dynamic loads as an influence on bone remodeling, *J. Biomech.*, **1984**, 17(12), p. 897.
- [4] Lanyon L.E., Using functional loading to influence bone mass and architecture: objectives, mechanisms, and relationship with estrogen of the mechanically adaptive process in bone, *Bone*, **1996**, 18(1 Suppl.), p. 37S.
- [5] O'Connor J.A., Lanyon L.E., MacFie H., The influence of strain rate on adaptive bone remodeling, *J. Biomech.*, **1982**, 15(10), p. 767.
- [6] Qin Y.X., Rubin C.T., McLeod K.J., Nonlinear dependence of loading intensity and cycle number in the maintenance of bone mass and morphology, *J. Orthop. Res.*, **1998** Jul., 16(4), p. 482.
- [7] Qui S.-J., Boyce T. M., Schaffler M. B., Osteocyte loss and microdamage in aging human compact bone, *Transaction of the 43rd ORS*, **1997**, 88.
- [8] Verborgt O., Gibson G.J., Schaffler M.B., Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue *in vivo*, *J. Bone Miner. Res.*, **2000** Jan., 15(1), p. 60.
- [9] Rubin C.T., Lanyon L.E., Dynamic strain similarity in vertebrates; an alternative to allometric limb bone scaling, *J. Theor. Biol.*, **1984**, 21;107(2), p. 321.
- [10] Rubin C.T., Lanyon L.E., Regulation of bone formation by applied dynamic loads, *J. Bone Joint. Surg. [Am.]*, **1984**, 66(3), p. 397.
- [11] Rubin C.T., Lanyon L.E., Regulation of bone mass by mechanical strain magnitude, *Calcif. Tissue Int.*, **1985**, 37(4), p. 411.
- [12] Schaffler M.B., Choi K., Milgrom C., Aging and matrix microdamage accumulation in human compact bone, *Bone*, **1995** Dec., 17(6), p. 521.
- [13] Turner C.H., Pavalko F.M., Mechanotransduction and functional response of the skeleton to physical stress: the mechanisms and mechanics of bone adaptation, *J. Orthop. Sci.*, **1998**, 3(6), p. 346.
- [14] Turner C.H., Site-specific skeletal effects of exercise: importance of interstitial fluid pressure, *Bone*, **1999**, 24(3), p. 161.
- [15] Wenzel T.E., Schaffler M.B., Fyhrie D.P., *In vivo* trabecular microcracks in human vertebral bone, *Bone*, **1996** Aug., 19(2), p. 89.
- [16] Cheng B., Zhao S., Luo J., Sprague E., Bonewald L.F., Jiang J.X., Expression of functional gap junctions and regulation by fluid flow in osteocyte-like MLO-Y4 cells, *J. Bone Miner. Res.*, **2001** Feb., 16(2), p. 249.
- [17] Dodd J.S., Raleigh J.A., Gross T.S., Osteocyte hypoxia: a novel mechanotransduction pathway, *Am. J. Physiol.*, **1999** Sep., 277(3 Pt 1), p. C598.
- [18] Gross T.S., Akeno N., Clemens T.L., Komarova S., Srinivasan S., Weimer D.A., Mayorov S., Selected Contribution: Osteocytes upregulate HIF-1alpha in response to acute disuse and oxygen deprivation, *J. Appl. Physiol.*, **2001** Jun., 90(6), p. 2514.
- [19] Rubin J., Fan X., Biskobing D.M., Taylor W.R., Rubin C.T., Osteoclastogenesis is repressed by mechanical strain in an *in vitro* model, *J. Orthop. Res.*, **1999** Sep., 17(5), p. 639.

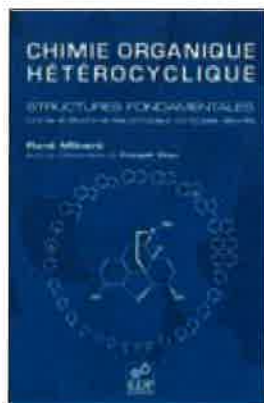
### Alain Meunier

est chargé de recherche CNRS au Laboratoire de biomécanique et des biomatériaux ostéo-articulaires de Paris VII\*.

\* Laboratoire de biomécanique et des biomatériaux ostéo-articulaires, UMR CNRS 7052, Faculté de Médecine Lariboisière Saint-Louis, Université Paris VII Denis Diderot, 10 avenue de Verdun, 75010 Paris.  
E-mail : ameunier@ext.jussieu.fr



# Nouveauté



• 2-86883-583-3 • 854 pages  
• 69 €

## Chimie organique hétérocyclique

René Milcent, François Chau

Cet ouvrage présente les hétérocycles suivants: aziridine, azétidine, pyrrole, pyridine, indole, quinoléine, isoquinoléine, et leurs analogues oxygénés et soufrés, les 1,3-azoles (ex : l'imidazole), les diazines (ex : la pyrimidine), et leurs dérivés « benzo » comme le benzimidazole et la quinoxaline, les purines et les ptéridines.

Pour chaque groupe d'hétérocycles, sont indiqués les différentes méthodes de synthèse, les propriétés chimiques et les composés naturels principaux avec leur(s) synthèse(s), leur biosynthèse, et, dans la plupart des cas, les mécanismes des réactions qui interviennent dans leurs activités biologiques.

De plus, un chapitre est consacré à la nomenclature, et un autre fournit les connaissances de base pour comprendre les mécanismes des réactions de Minisci, les réactions catalysées par le palladium (« cross linking », par exemple) et aussi les cycloadditions 1,3-dipolaires dans leurs applications au domaine de la chimie hétérocyclique.

René MILCENT est professeur de chimie organique à l'Université Denis Diderot à Paris où il enseigne la chimie hétérocyclique dans les premier, second et troisième cycles. François CHAU est maître de conférences de chimie organique à l'Université Denis Diderot à Paris.

EN VENTE EN LIBRAIRIE

## Intérêt de la fonctionnalisation d'un matériau pour l'amélioration de la relation cellule/support

Marie-Christine Porté-Durrieu, Joëlle Amédée et Charles Baquey

### Summary

#### The role of surface functionalization in the development of vascular and bone implants

Materials employed in biomedical technology are increasingly being designed to have specific, desirable biological interactions with their surroundings. Materials communicate with their environment through their interfaces. Both, the kind and the strength of such « communications » are determined by the interfacial properties of the material. The last 50 years has witnessed dramatic progress in the ability to comprehend and to characterize types of communications, significantly advancing the fields of materials and surface science. During the same time, cell and molecular biology has undergone a revolution in the understanding of molecular mechanisms and signalling cascades between living cells and their environment. As a consequence, any serious attempt to engineer a successful biomaterial must merge the knowledge of materials surface science and cell and molecular biology and will allow us to establish and accurately control the interfacial interactions needed for biospecificity.

### Mots-clés

**Biomatériaux, substitut vasculaire, substitut osseux, traitement de surface, fonctionnalisation.**

### Key-words

**Biomaterials, vascular substitute, bone substitute, surface treatment, functionalization.**

L'augmentation de notre espérance de vie, le souhait légitime de la qualité de notre vie face aux lésions traumatologiques, congénitales, pathologiques ou du vieillissement, rendent compte du fait que dans 10 % de son activité médicale ou chirurgicale, le médecin fait appel aux biomatériaux au cours d'un geste diagnostique, préventif ou thérapeutique. Le secteur des biomatériaux regroupe 4 000 produits différents, issus de technologies et de matériaux généralement développés pour d'autres finalités et il est intéressant de rappeler que peu ou aucun des biomatériaux ne sont issus de technologies spécifiques à finalité biomédicale. Ce domaine fait appel, en termes de matériaux, aux métaux, aux alliages et céramiques, aux polymères de synthèse et d'origine biologique ainsi que plus récemment à tout système associant à ces matériaux dits

« de première génération », des fonctions biologiques spécifiques qui véhiculent des facteurs ou des cellules associés aux biomatériaux, dans le cadre de systèmes hybrides. Dans ce dernier cas, l'association avec des populations cellulaires autologues implique une coopération parfaite entre le biomatériau et les cellules susceptibles de le coloniser. Rendre plus « attractifs » ces matériaux existants pour le tissu ou les cellules environnants constitue une des principales stratégies dans ce domaine de recherche sur les biomatériaux. Pour ce faire, une des approches expérimentales qui est utilisée consiste à fonctionnaliser la surface des matériaux (*figure 1*) par des ligands « pro-adhésifs » susceptibles d'améliorer l'adhésion cellulaire et donc la colonisation cellulaire et tissulaire de ces matériaux.

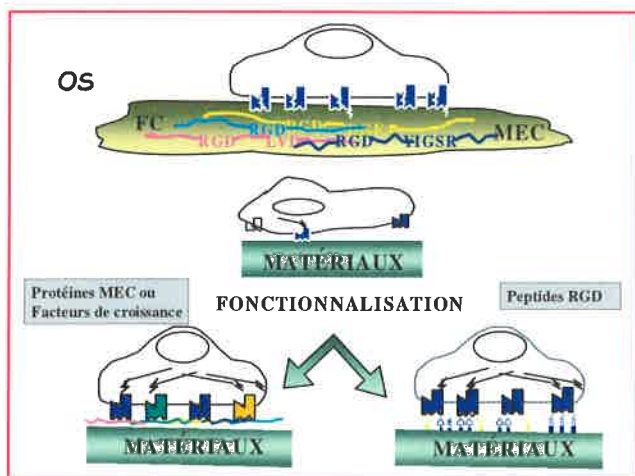


Figure 1 - Fonctionnalisation de la surface des matériaux.

### Fonctionnalisation de matériaux

#### Élaboration de nouvelles prothèses vasculaires

##### Situation actuelle

L'enjeu actuel consiste en l'élaboration de matériaux polymères hémocompatibles en vue de la préparation de nouveaux substituts vasculaires. En effet, les maladies cardiovasculaires représentent un quart des pathologies rencontrées. La dégénérescence de l'arbre vasculaire sous divers facteurs tels que l'âge, l'hygiène de vie, et le dérèglement de certains équilibres physiologiques, est un phénomène lent et irréversible conduisant soit à l'occlusion, soit à la dilatation des vaisseaux pouvant être fatale pour l'individu. Les traitements actuels de ces maladies sont symptomatiques et s'attachent à restaurer la circulation sanguine dans un nombre limité de pathologies. La chirurgie artérielle restauratrice permet, notamment, de remplacer un segment artériel défectueux par un substitut vasculaire

biologique ou synthétique. C'est en 1949 que Gross, Bill et Pierce ont inauguré la première « banque d'artères », mais c'est en 1952 que Voorhees, Jaretzki et Blakemore ont montré pour la première fois que des prothèses vasculaires en matière synthétique (Vinyon N<sup>®</sup>) pouvaient être mises en place pour jouer le rôle de vaisseaux sanguins artificiels. Des matériaux en polyamide furent d'abord employés avant d'aboutir, à la suite des travaux de De Bakey, Edwards et Wesolowski en 1962, à la production en série de prothèses vasculaires en poly(téréphtalate d'éthylène) (PET) (Dacron<sup>®</sup>, Tergal<sup>®</sup>) ou en poly(tétrafluoroéthylène) (PTFE) (Téflon<sup>®</sup>). Les prothèses en PET et en PTFE sont actuellement les plus utilisées. Elles sont disponibles dans tous les diamètres de 6 à 24 mm. Le remplacement vasculaire prothétique (1 000 000 de prothèses vasculaires implantées entre 1958 et 1978, 15 000 prothèses vasculaires par an en France) reste limité aux vaisseaux de calibre supérieur à 5 mm de diamètre. Dans 30 % des cas, une réintervention chirurgicale est nécessaire après 5 ans.

Il n'existe aucun matériau de synthèse d'hémocompatibilité suffisante pour permettre le remplacement de petits vaisseaux pour lesquels seule l'autogreffe veineuse peut être proposée. Ici, les conditions rhéologiques, le bas débit exacerbent l'hémo-incompatibilité des matériaux utilisés. Lorsqu'en 1926 Georges Haas, réalisant la première hémodialyse chez l'Homme, nota que la prévention de la coagulation était la clé du développement des procédures de dialyse, il signalait ainsi de façon prémonitoire ce qui reste aujourd'hui encore un des problèmes des biomatériaux au contact du sang : celui de l'activation de l'hémostase au contact de toute surface artificielle et non endothéliale.

Ainsi, en plus des critères communs à tous les biomatériaux devant être utilisés au contact de milieux vivants (fiabilité dans ces milieux biologiques, absence d'effet toxique et immunologique, aptitude à la stérilisation), les matériaux en contact du sang doivent permettre la conservation des équilibres osmotiques, acido-basiques du sang, ne pas altérer par consommation ou dénaturation les protéines plasmatiques, ne pas altérer ou fragiliser les éléments figurés du sang, ne pas activer les systèmes du complément de l'hémostase.

De fait, l'hémocompatibilité qui résume ces propriétés résulte d'une interrelation dynamique entre une surface artificielle (nature physique de l'interface, structure chimique superficielle du biomatériau), un équilibre physico-chimique instable du sang et des conditions rhéologiques de son écoulement (conception de la prothèse, conditions hémodynamiques...). Ainsi, la structure chimique superficielle du biomatériau impose la nature des interactions entre les protéines, les cellules et la surface ; quant à la rugosité, elle peut être assimilée à un amplificateur de ces interactions. Au contact du sang, tous les matériaux actuellement disponibles sont des activateurs des mécanismes de l'hémostase et aucune intervention sur le système cardiovasculaire, aucune dialyse ne pourrait être réalisée sans bloquer ou inhiber ces mécanismes par addition d'anticoagulants : héparine ou citrate dans le cas des circulations extra-corporelles (CEC) ou des prises de sang, antivitamines K dans le cas des prothèses implantées.

L'absence de matériaux « inertes » vis-à-vis de l'hémostase constitue une limitation critique au développement des prothèses implantées (veines, artères de petits diamètres). La création d'une thrombose prend naissance à l'interface sang/substitut et peut résulter de l'action combinée de plusieurs mécanismes complexes dans lesquels

interviennent entre autres les plaquettes sanguines, les protéines plasmatiques, le système du complément...

### Stratégies proposées

Sachant que le comportement de ces éléments est étroitement lié à l'état de surface de l'implant vasculaire (caractéristiques physico-chimiques et morphologiques), différentes stratégies peuvent être envisagées. Généralement, les recherches entreprises ont pour but d'élaborer des matériaux susceptibles d'inhiber une étape donnée de la thrombogenèse, en liant certaines substances ou groupements à la surface des prothèses synthétiques. Les matériaux à l'étude peuvent être classés en différentes catégories :

- les matériaux inhibant la formation de thrombine par fixation de molécules à visée anticoagulante en leur surface ;
- ceux activant la fibrinolyse. Plusieurs auteurs ont proposé d'associer à des polymères synthétiques, des agents activateurs de la fibrinolyse comme l'urokinase et le tPA (activateur du plasminogène) ;
- ceux inhibant l'activation plaquettaire ;
- les matériaux endothélialisables. En effet, aucun des biomatériaux à usage vasculaire actuel ne possède les propriétés de thrombo-résistance de l'endothélium. Parmi les nombreuses voies de recherche engagées pour éviter à long terme l'occlusion des prothèses vasculaires, un des axes de recherche actuels consiste à couvrir la paroi interne de la prothèse d'une monocouche endothéliale continue. Ce concept correspond à la création **d'organes bio-artificiels**. Des séquences peptidiques comportant la séquence RGD (arginine-glycine-acide aspartique) ont été « fixées » sur différents supports (polyéthylène, polyuréthane, alcool polyvinylique) permettant dans certains cas d'augmenter le nombre de cellules adhérant à la surface des matériaux.

### Élaboration de nouvelles prothèses osseuses

#### Situation actuelle

Les pathologies ostéo-articulaires dégénératives, les malformations et déformations vertébrales, les séquelles des traumatismes osseux, les tumeurs de l'appareil locomoteur, sans oublier le vieillissement des populations qui induit de plus en plus d'opérations chirurgicales de révision de prothèses ostéo-articulaires, nécessitent à des degrés variables des greffes osseuses.

A l'heure actuelle, l'autogreffe spongieuse constitue le traitement le plus logique et le mieux adapté aux pertes de substances osseuses. Cependant, la pratique de telles greffes n'est pas sans inconvénient : les sites de prélèvements sont limités, leurs formes souvent inadaptées et leurs greffons de petits volumes. De plus, leurs utilisations sont souvent restreintes par les complications pouvant survenir au niveau du site donneur (douleurs opératoires, hématomes, suppurations...).

Nous comprenons donc que l'intérêt porté aux substituts osseux s'est considérablement accru depuis quelques années. Ce phénomène est accentué par la prise de conscience des risques de contamination virale, associée à l'utilisation des allogreffes (greffes réalisées entre un donneur et un receveur appartenant à la même espèce), et de transmission d'agents pathogènes non conventionnels, associée à celles de xéno-greffes (greffes pratiquées avec un tissu ou un organe provenant d'une espèce différente de celle de l'organisme receveur). Ces greffes constituent les seules alternatives, susceptibles de compléter le matériel

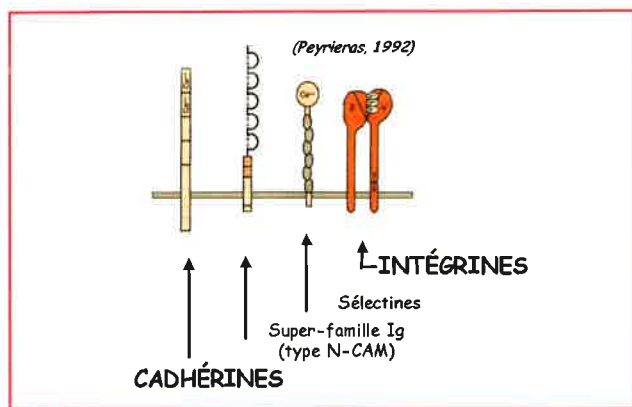


Figure 2 – Les molécules d'adhésion impliquées dans l'adhésion cellulaire.

d'autogreffe, pour le comblement de lacunes osseuses consécutives à l'exérèse de tumeurs et de lésions traumatiques ou dégénératives.

Il apparaît donc évident que les chirurgiens soient à la recherche d'un produit facilement disponible, d'utilisation commode, exempt de risques pathogènes pour le receveur, capable de s'intégrer au territoire osseux concerné par la lésion et doté des propriétés mécaniques lui permettant de supporter les contraintes qui transitent par le site d'implantation.

En France, 60 000 prothèses de hanche et 30 000 prothèses de genou sont posées annuellement. Quinze pour cent d'entre elles correspondent au remplacement pour échec d'une prothèse déjà mise en place. La majorité des échecs est due à un descellement aseptique : la prothèse se désolidarise de son environnement osseux, devient mobile et douloureuse. Le choix des matériaux employés ainsi que le dessin de la prothèse peuvent, bien sûr, moduler ces résultats à long terme. L'environnement biologique est extrêmement agressif et les matériaux implantés peuvent subir des dégradations chimiques, électrochimiques ou cellulaires. D'autre part, les tissus biologiques environnant un implant sont le siège de contraintes mécaniques cycliques élevées : par exemple, lors de la phase d'appui de la marche, une tête fémorale peut supporter jusqu'à trois fois le poids du corps. Les matériaux sont donc également susceptibles de se dégrader sous l'action de ces sollicitations alternées, soit par usure des surfaces frottantes, soit par rupture en fatigue d'un des composants de l'implant.

### Stratégies proposées

Idéalement, une prothèse articulaire doit posséder une tenue dans le temps supérieure à l'espérance de vie du patient. Actuellement, les facteurs limitant à long terme ont pour origine les interactions entre les biomatériaux implantés et les tissus biologiques environnants. Seule une approche pluridisciplinaire prenant en compte simultanément les aspects physico-chimiques, mécaniques et biologiques de ces interactions, peut permettre de développer des biomatériaux et des implants optimisés. En priorité, la recherche doit porter sur :

- la conception de matériaux de frottement à usure faible ou dont les débris minimisent la réaction inflammatoire ;
- l'amélioration de l'ancrage osseux immédiat afin d'obtenir une pérennité de l'interface sans évolution des tissus vers la fibrose.

Les matériaux recherchés doivent être ostéoconducteurs et donc capables de guider la reconstruction du tissu osseux sur le site lésionnel, ostéoinducteurs, c'est-à-dire aptes à stimuler des phénomènes de reconstructions, et résorbables (sans générer de produits toxiques) de manière à être progressivement remplacés par le tissu osseux néoformé. Les biomatériaux doivent aussi posséder une bonne tenue biomécanique pour permettre leur utilisation sur des sites d'implantation à fortes concentrations de contraintes, et être biocompatibles (toxicité, cytocompatibilité...). A cela peuvent venir s'ajouter des propriétés de mise en forme pratique (bonne usinabilité) pour la fabrication de formes géométriques complexes et une retouche extemporanée de l'implant par le chirurgien pour l'adapter au site d'implantation. Il faut aussi tenir compte des possibilités de stérilisation, de stockage et de coût acceptable. Quoiqu'il en soit, à l'heure actuelle, aucun des biomatériaux proposés ne répond parfaitement au cahier des charges de la prothèse osseuse « idéale ».

De plus, selon la nature du matériau, sa porosité, sa biodégradabilité, la réhabilitation cellulaire peut ne pas être totale. Il s'avère donc nécessaire de promouvoir cette réhabilitation cellulaire et d'assurer une parfaite biointégration de l'implant.

Les nombreux progrès survenus au cours de ces dernières années dans le domaine des biomatériaux, ont contribué à une nouvelle orientation des recherches portant sur la conception de matériaux implantables biologiquement actifs. Ces matériaux peuvent être rendus biologiquement actifs grâce à différents procédés :

#### • Par incorporation de facteurs d'adhésion cellulaire, comme les oligopeptides.

En effet, une voie de recherche qui mobilise de plus en plus d'équipes dans le monde s'inscrit dans l'élaboration de substituts artificiels de tissus osseux prévoyant d'obtenir *in vitro* la colonisation de matrices ostéoconductrices par des cellules d'origine autologue (issue du futur receveur) à potentiel ostéogène : on parle alors de matériaux hybrides. L'affinité des peptides d'adhésion pour les cellules ostéoblastiques est étroitement liée aux intégrines (figure 2) exprimées par celles-ci, spécifiques d'une ou plusieurs protéines de la matrice extracellulaire (figure 3). Des études ont été relevées dans la littérature concernant l'influence d'un revêtement de protéines matricielles (figure 4) ou de peptides contenant le motif RGD présent sur la plupart des protéines de la matrice extracellulaire.

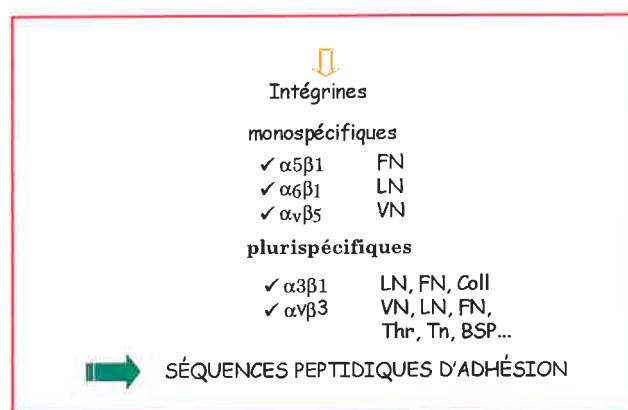


Figure 3 - Protéines d'adhésion impliquées dans la relation cellule/MEC.

- ↳ Laminine : YIGSR, PDGSR, RYV, YKVAV, RGD...
- ↳ Fibronectine : LDV, REDV, RGD...
- ↳ Vitronectine : RGD
- ↳ Collagène de type I : DGEA, RGD...
- ↳ Thrombospondine : VYXG, RGD...
- ↳ Ténascine : RGD...

Figure 4 - Séquences identifiées dans les protéines de la matrice extracellulaire.

• **Par fixation de biomolécules connues pour leurs effets ostéotropiques** : effet mitogène par l'intermédiaire des facteurs de croissance (e.g. IGF-1, FGF-2 et PDGF-BB) ; augmentation de l'activité des cellules osseuses (e.g. TGF $\beta$ 1 augmente la synthèse de collagène) ; favoriser l'ostéoinduction (e.g. BMPs). La délivrance d'une ou plusieurs de ces biomolécules qui jouent un rôle essentiel au niveau de l'ostéogenèse, directement à l'interface tissu-implant, peut ainsi favoriser la formation osseuse. Il reste cependant à maîtriser le mode de greffage pour qu'il n'y ait pas une délivrance incontrôlée du principe actif et que la méthode d'immobilisation n'affecte son activité biologique.

## Conclusions

L'élaboration de matériaux bioactifs, c'est-à-dire susceptibles d'orienter spécifiquement le comportement des protéines et/ou cellules à leur contact, demeure une des voies de recherche les plus étudiées actuellement. Ces matériaux sont le plus souvent obtenus par traitement superficiel des matériaux existants. La faisabilité de ces modifications de surface passe par l'utilisation d'outils de caractérisation physico-chimique (mouillabilité, FTIR/ATR, spectroscopie de photoélectrons, utilisation de traceurs radioactifs...) permettant de contrôler l'état de surface et de pouvoir relier cet état à une réponse biologique des cellules ou des tissus le colonisant.

## Étude *in vitro* de la relation cellule/matériau : application à la réparation du tissu osseux

La séquence des événements biologiques conduisant à une réparation complète de l'os après fracture a été maintes fois décrite. De façon très générale, après une réaction inflammatoire qui facilite la résorption des tissus lésés, on observe la formation d'un tissu fibro-conjonctif au sein duquel se développe un lit capillaire qui permet le recrutement des précurseurs et/ou la différenciation des cellules spécialisées. Lors de l'utilisation d'un matériau de comblement osseux, c'est cette dynamique biologique qu'il s'agit de favoriser pour **optimiser l'intégration de l'implant**.

Jusqu'à présent, les critères pris en compte dans le choix des matériaux de comblement osseux étaient la **biocompatibilité** et les **propriétés mécaniques**. Depuis quelques années, un autre critère est considéré, il s'agit de la **bioreactivité**. Cette dernière notion est étroitement liée à la relation cellule/matériau, dont une des réponses précoces est l'**attachement**, puis l'**adhésion** des cellules sur ces

différents supports. La connaissance des mécanismes mis en jeu dans cette réponse cellulaire est donc très importante car elle conditionne les phénomènes de réhabilitation cellulaire et donc de biointégration de l'implant.

La fonctionnalisation de matériaux par des peptides d'adhésion de type RGD, comme cela a été présenté dans le chapitre précédent, devrait jouer une fonction importante au cours des différentes étapes de la relation cellule/matériau qui vont conduire à la synthèse d'un tissu ostéoïde au sein de ces matrices, à savoir :

- l'attachement et adhésion cellulaire,
- la colonisation cellulaire du matériau,
- la synthèse du tissu ostéoïde.

## Attachement et adhésion cellulaire

### Les protéines impliquées dans la relation cellule-matrice

L'élaboration *in vitro* de matériaux artificiels hybrides constitués d'une matrice artificielle d'origine synthétique ou naturelle et d'une composante cellulaire ostéogénique, fait appel dans un premier temps aux propriétés d'attachement des cellules à cette matrice. Les cellules peuvent présenter alors des morphologies différentes. Certaines sont bien étalées, présentent un corps cellulaire arrondi et des expansions cytoplasmiques importantes, alors que d'autres restent arrondies. Ce changement de forme peut apparaître non seulement comme une conséquence d'une activité cellulaire modifiée, mais inversement peut être responsable de modifications profondes de leur métabolisme.

Plus particulièrement, les variations de contraintes mécaniques ont des conséquences directes sur le phénomène d'adhésion et de métabolisme cellulaire. De nombreuses études *in vivo* ont montré que d'une part, les forces mécaniques sont transmises à la cellule en partie par le biais de la matrice extracellulaire et d'autre part, que les cellules exercent des forces rétractiles sur la matrice extracellulaire du fait de l'existence de forces intracellulaires liées au cytosquelette.

Ces forces physiques ne peuvent être transmises qu'entre des éléments qui sont connectés. **Les intégrines** sont des glycoprotéines transmembranaires constituées de deux sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ , et relient physiquement les protéines du cytosquelette associées à l'actine (taline, vinculine, paxilline,  $\alpha$ -actinine) à la matrice extracellulaire composée de collagène, de laminine, de vitronectine, de fibronectine, etc. Au moment de l'attachement des cellules, leur regroupement forme des plaques d'adhésion (ou contacts focaux). Ces plaques d'adhésion sont sensibles aux changements d'environnement mécanique et participent à la mécanotransduction dans la cellule ostéoblastique. En effet, la cascade d'événements qui accompagne leur formation est modifiée lors de la diminution ou de l'augmentation des contraintes mécaniques. Ces événements comprennent la réorganisation du cytosquelette (microfilaments), des modifications de forme qui en résultent, la transcription des gènes de réponse précoce, des changements induits sur le cycle cellulaire, et enfin l'évolution de la différenciation ostéoblastique incluant des modifications dans la transcription de gènes plus tardifs. *In vivo*, les conséquences à l'échelon tissulaire se traduisent par des modifications de la masse et/ou de l'architecture osseuse, changeant ainsi le comportement biomécanique de l'os.

Les intégrines sont donc capables de transduction du signal au même titre que des récepteurs hormonaux et leur situation privilégiée entre cellule et matrice en font de bons

candidats comme **mécanorécepteurs** et transmettent à la cellule les changements de son environnement mécanique. Si l'on s'intéresse aux mécanismes de reconnaissance de ces glycoprotéines transmembranaires à la matrice extracellulaire, pour certaines intégrines, les séquences de type RGD portées par la plupart des éléments de la matrice extracellulaire jouent un rôle majeur dans cette mécanotransduction. L'affinité des peptides d'adhésion de type RGD pour les cellules ostéoblastiques est de ce fait étroitement liée aux intégrines exprimées par celles-ci. Quelques données rapportées dans la littérature montrent une différence de reconnaissance de peptides de type RGD par des ostéoblastes issus d'os trabéculaire humain. Ainsi, il y aura lieu de sélectionner une séquence peptidique, de longueur et de structure (linéaire ou cyclique) déterminées, spécifique du type cellulaire que l'on veut recruter. L'ensemble de ces données est important à considérer dans le domaine des biomatériaux. En effet, lors de l'implantation d'un matériau hybride dans une lacune osseuse, selon le site d'implantation, ces matériaux « cellularisés » seront soumis à différentes contraintes mécaniques. L'ostéogénèse et la qualité de l'os néoformé seront étroitement liées aux variations des contraintes mécaniques qui seront exercées sur ce matériau cellularisé et pourraient être améliorées par la présence de peptides d'adhésion immobilisés à la surface des matériaux activant les intégrines, mécanotransducteurs de la réponse biologique.

#### Quantification de l'adhésion cellulaire

La quantification de l'adhésion cellulaire pourra être étudiée par les méthodes suivantes :

- quantification du nombre de cellules adhérentes (dosage d'activité enzymatique lysosomiale, test au MTT),
- présence des contacts focaux (immunomarquage de la vinculine et des phosphotyrosines),
- recherche des intégrines exprimées ou sollicitées par la fonctionnalisation (RT-PCR, immunofluorescence).

#### Étude *in vitro* de la colonisation cellulaire des matériaux

Suite à l'attachement et à l'adhésion des cellules recrutées par les peptides immobilisés, la colonisation cellulaire du matériau en surface et au centre de celui-ci reste un critère absolu pour la biointégration de cette unité. Il apparaît évident que la porosité du matériau joue en outre un rôle essentiel dans cette réhabilitation cellulaire après implantation. La prolifération cellulaire au sein d'un matériau de substitution peut être suivie qualitativement par microscopie électronique à balayage et quantitativement par incorporation de [<sup>3</sup>H]-thymidine dans les cellules. Ainsi, selon le matériau, le ligand sélectionné pour fonctionnaliser la surface et la population cellulaire utilisée pour les essais *in vitro*, la colonisation cellulaire du matériau pourra être variable.

#### Étude du phénotype cellulaire

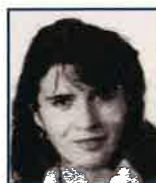
La bioréactivité d'un matériau de comblement osseux ne peut être confirmée que si ce dernier favorise ou maintient le phénotype ostéogène des cellules le colonisant. Pour cela, des techniques d'hybridation *in situ* ou d'immunomarquage s'avèrent nécessaires pour confirmer le phénotype des

cellules et s'assurer que le ligand sélectionné pour les modifications de surface ne modifie pas *via* l'activité des intégrines et des **voies de signalisation intracellulaire** (libération de seconds messagers, Ca<sup>2+</sup>, MAPK...) l'expression génique des cellules recrutées sur ces matériaux et la synthèse des protéines matricielles.

*Néanmoins, ces analyses in vitro, ne permettent pas d'évaluer d'autres critères fondamentaux à la qualité d'un biomatériau, à savoir de « conduire » la formation d'un tissu osseux présentant les meilleures caractéristiques biomécaniques possibles et offrir une parfaite ostéointégration. Ces propriétés sont essentielles quant à l'utilisation de tels matériaux hybrides dans des sites osseux subissant de fortes contraintes mécaniques, les micromouvements de l'implant induisant de plus une microencapsulation. Les études expérimentales constituent alors des outils précieux pour valider l'originalité et la faisabilité de tels modèles d'autogreffes cellulaires.*

#### Bibliographie

- Anselme K., Osteoblast adhesion on biomaterials, *Biomaterials*, **2000**, 21, p. 667.
- Cahn R.W., Haasen P., Kramer E.J., *Medical and dental materials*, D.F. Williams ed., Weinheim, New York, Basel, Cambridge, VCH, **1992** (*Materials science and technology*, vol. 14).
- Dee K.C., Anderson T.T., Bizios R., Osteoblast population migration characteristics on substrates modified with immobilized adhesive peptides, *Biomaterials*, **1999**, 20, p. 221.
- Gronowicz G., Derome M., Synthetic peptide containing Arg-Gly-Asp inhibits bone formation and resorption in a mineralizing organ culture system of fetal rat parietal bones, *J. Bone and Mineral Res.*, **1994**, 9(2), p. 193.
- Hynes R.O., Integrins: a family of cell surface receptors, *Cell*, **1987**, 48, p. 549.
- Hynes R.O., Integrins: versatility, modulation and signalling in cell adhesion, *Cell*, **1992**, 69, p. 11.
- Ikada Y., Surface modification of polymers for medical applications, *Biomaterials*, **1994**, 15, p. 725.
- Majeska R.J., Port M., Einhorn T.A., Attachment to extracellular matrix molecules by cells differing in the expression of osteoblastic traits, *J. Bone and Mineral Res.*, **1993**, 8(3), p. 277.
- Puleo D.A., Nanci A., Understanding and controlling the bone implant interface, *Biomaterials*, **1999**, 20, p. 2311.
- Ruoslahti E., Pierschbacher M.D., New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins, *Science*, **1987**, 238, p. 491.



M.-C. Porté-Durrieu



C. Baquey

**Marie-Christine Porté-Durrieu\*** est chargée de recherche INSERM et **Joëlle Amédée** est directeur de recherche INSERM dans le Laboratoire Biomateriaux et réparation tissulaire de Bordeaux dirigé par **Charles Baquey**.



J. Amédée

\* INSERM U.443, Biomateriaux et réparation tissulaire, Université Victor Segalen, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex.  
E-mail : porte@bordeaux.inserm.fr

# Synthèse d'un complexe organométallique

L'allénylidène  $trans\text{-}[\text{Cl}(\text{dppe})_2\text{Ru}^{\text{II}}=\text{C}=\text{C}=\text{CPh}_2]^+\text{PF}_6^-$

Stéphane Rigaut, Daniel Touchard et Muriel Hissler

**Summary** Organometallic synthesis, using standard Schlenk techniques, and characterization of an allenylidene ruthenium complex.

**Mots-clés** **Complexe organométallique, allénylidène, synthèse, atmosphère inerte, caractérisation.**

**Key-words** **Organometallic complex, allenylidene, synthesis, inert atmosphere, characterization.**

L'enseignement expérimental que nous décrivons est actuellement proposé aux étudiants de maîtrise de chimie de l'Université de Rennes 1, dans le cadre des travaux pratiques de chimie organométallique. La réaction utilisée est issue des recherches que nous effectuons au laboratoire. D'une façon générale, nous pensons que ce type de travail expérimental connecté à la recherche, favorisant la réflexion et les échanges, doit être développé à ce niveau d'études. La séance se déroule sur une journée complète. Elle présente de multiples points forts :

- (i) Illustrer une chimie organométallique en pleine expansion (et pourtant assez peu représentée dans les universités), le type de complexe utilisé faisant actuellement l'objet de nombreuses études [1-6].
- (ii) Familiariser les étudiants aux méthodes de travail en atmosphère contrôlée (techniques de Schlenk), méthodes par ailleurs de plus en plus utilisées en chimie organique.
- (iii) Donner la possibilité d'utiliser plusieurs types de caractérisations : les spectroscopies RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , IR, UV-visible et la voltampérométrie cyclique.
- (iv) Lors de la séance, laisser du temps aux étudiants pour appréhender la manipulation dans son ensemble (mécanisme, purification, études spectroscopiques...) et ainsi favoriser les échanges étudiants/enseignants.
- (v) Le produit obtenu peut être un point de départ pour d'autres manipulations [5-6].

La synthèse de l'allénylidène  $trans\text{-}[\text{Cl}(\text{dppe})_2\text{Ru}^{\text{II}}=\text{C}=\text{C}=\text{CPh}_2]^+\text{PF}_6^-$  (dppe :  $\text{Ph}_2\text{PCH}_2\text{CH}_2\text{PPh}_2$ ) s'effectue à l'aide d'une rampe « vide/argon » (figure 1) et utilise de petites quantités de réactifs (200 mg) afin d'apprendre aux étudiants à manipuler de faibles masses, mais aussi pour des raisons évidentes d'économie. Le réactif et le produit sont particulièrement stables et ainsi bien adaptés à une manipulation destinée à des organométalliciens débutants. La réaction est quantitative et le produit synthétisé généralement pur. Toutefois, il est possible d'utiliser une partie de l'allénylidène obtenu pour illustrer la technique de cristallisation en deux phases (environ

20 heures de diffusion). En effet, la stabilité du complexe permet d'attendre plusieurs jours le traitement (séance suivante). Notons que le précurseur  $cis\text{-}[\text{Cl}_2(\text{dppe})_2\text{Ru}^{\text{II}}]$  pourra être facilement préparé par l'enseignant à l'échelle de plusieurs grammes.

Le complexe est caractérisé à l'aide de diverses techniques : RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , IR, UV-visible, voltampérométrie cyclique. Selon les orientations pédagogiques, le temps imparti et les moyens techniques, un certain nombre d'analyses pourra être réalisé lors de la séance.

Durant la période d'agitation, des données spectroscopiques préenregistrées sont remises aux étudiants. Afin de renforcer « l'esprit recherche » dans lequel est conduit la séance, un court travail bibliographique consistant à décrire la synthèse simple d'un complexe organométallique à partir de produits commerciaux peut aussi leur être confié.

## Introduction

Les métaux de transition permettent de stabiliser des espèces carbéniques très réactives telles que :  $(\text{C})_n=\text{CR}_2$ . Les complexes organométalliques cumulénylidènes résultants  $[\text{M}]=(\text{C})_n=\text{CR}_2$  sont des composés actuellement très

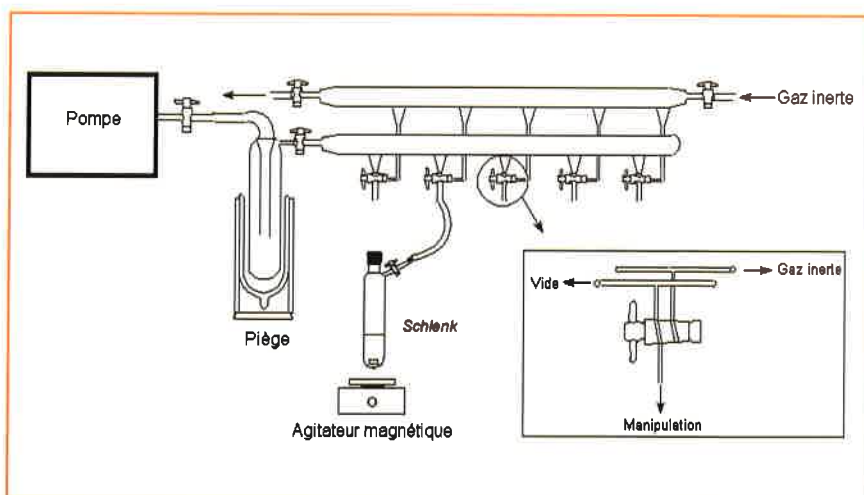


Figure 1.

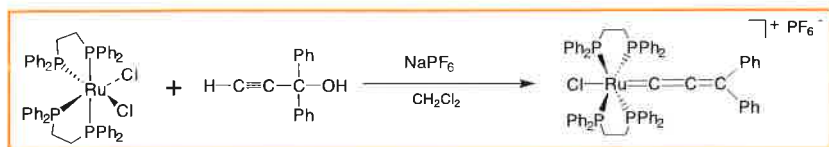


Figure 2 - Synthèse de l'allénylidène  $trans-[Cl(dppe)_2Ru^{II}=C=C=CPh_2]^+, PF_6^-$ .

étudiés [1]. En effet, ils présentent de nombreuses applications en catalyse [2] et sont très prometteurs dans le domaine de l'électronique moléculaire [3] et l'élaboration de capteurs chimiques [4]. Nous allons étudier plus particulièrement le complexe allénylidène ( $n=2$ ) du ruthénium  $trans-[Cl(dppe)_2Ru^{II}=C=C=CPh_2]^+, PF_6^-$  (dppe :  $Ph_2PCH_2CH_2PPh_2$ ) qui est un carbène de Fischer (ligand de type L) [5]. A l'aide des groupements dppe très encombrants (présence des phényles), le greffon  $[Cl(dppe)_2Ru^{II}]^+$  riche en électrons offre à la chaîne carbonée une grande protection à la fois stérique et électronique et de ce fait, une stabilité exceptionnelle pour ce type de composés. Ainsi, la chaîne n'est pas sensible à l'attaque de nucléophiles neutres et seul le carbone en position  $\gamma$  du ruthénium est l'objet d'attaques par des nucléophiles puissants ( $MeO^-$ ,  $H^+$ ...).

### La réaction

La synthèse se fait par activation d'un alcool propargylique (figure 2). Elle est effectuée à température ambiante, dans le dichlorométhane, à partir du précurseur  $cis-[Cl_2(dppe)_2Ru^{II}]$  en présence d'un sel non coordinant et de l'alcool approprié (1,1-diphényl-prop-2-yne-1-ol) [5a].

### Partie expérimentale

#### Préparation de l'allénylidène $trans-[Cl(dppe)_2Ru^{II}=C=C=CPh_2]^+, PF_6^-$

Dans un tube de Schlenk muni d'un barreau aimanté, introduire 200 mg (0,2 mmole) de  $cis-[Cl_2(dppe)_2Ru^{II}]$ , 67 mg (0,4 mmole) de  $NaPF_6$  (rapidement pesé) et 84 mg (0,4 mmole) de 1,1-diphényl-prop-2-yne-1-ol (figure 1). Désaérer les solides sous le vide de la pompe et introduire 10 mL de  $CH_2Cl_2$  saturé en azote à l'aide d'une seringue. La

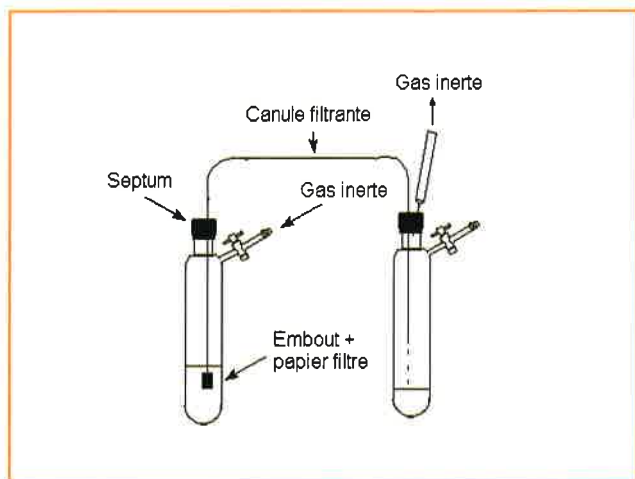


Figure 3.

solution initialement jaune vire rapidement au rouge. Elle est agitée durant 4 heures à température ambiante. La solution rouge intense obtenue est décantée puis filtrée dans un autre tube de Schlenk avec une canule équipée d'un embout muni d'un papier filtre (figure 3). Le solvant est évaporé sous le vide de la pompe et le solide résultant est lavé avec de l'éther saturé en azote (2 x 20 mL) en grattant les parois du tube avec une spatule. Après élimination du solvant avec une canule et séchage sous vide, une fine poudre rouge, stable à l'air, est récupérée (figure 4).



Figure 4.

#### Cristallisation en deux phases ( $CH_2Cl_2$ /pentane)

Le solide est dissout sous atmosphère inerte dans 10 mL de  $CH_2Cl_2$  (solvant fort) désaéré, puis la solution est filtrée dans un autre tube de Schlenk avec une canule filtrante. A l'aide d'une seringue, 20 mL de pentane (solvant faible) désaéré sont ajoutés goutte à goutte le long de la paroi du tube afin de déposer lentement la couche de pentane sur la solution de  $CH_2Cl_2$  et obtenir ainsi deux phases pouvant diffuser lentement l'une dans l'autre. La diffusion est complète après une quinzaine d'heures et l'allénylidène est récupéré sous forme de fins cristaux rouges après filtration (la solution reste légèrement colorée).

#### Caractérisations

Tracer les spectres IR, UV-vis ( $CH_2Cl_2$ ,  $10^{-4}$  mol.L $^{-1}$ ) ou RMN ( $CDCl_3$ )  $^1H$ ,  $^{31}P$ ,  $^{13}C\{^1H\}$  (voir figure 5).

Éventuellement, effectuer l'étude électrochimique par voltampérométrie cyclique entre 0 et -1,5 V en utilisant le ferrocène comme référence interne ( $CH_2Cl_2$ ,  $nBu_4NPF_6$  0,1 mol.L $^{-1}$ ).

#### Questions posées aux étudiants

Les réponses seront trouvées ci-dessous et dans les références [5a] et [5b].

1) Interpréter les spectres RMN  $^1H$ ,  $^{31}P\{^1H\}$ ,  $^{13}C\{^1H\}$ , IR, UV-vis et la voltampérométrie cyclique. Pourquoi, dans le spectre RMN  $^{31}P\{^1H\}$ , les groupements dppe donnent seulement un signal singulet ? Quelle peut être l'allure du spectre RMN  $^{31}P\{^1H\}$  du précurseur  $cis-[Cl_2(dppe)_2Ru^{II}]$  ?



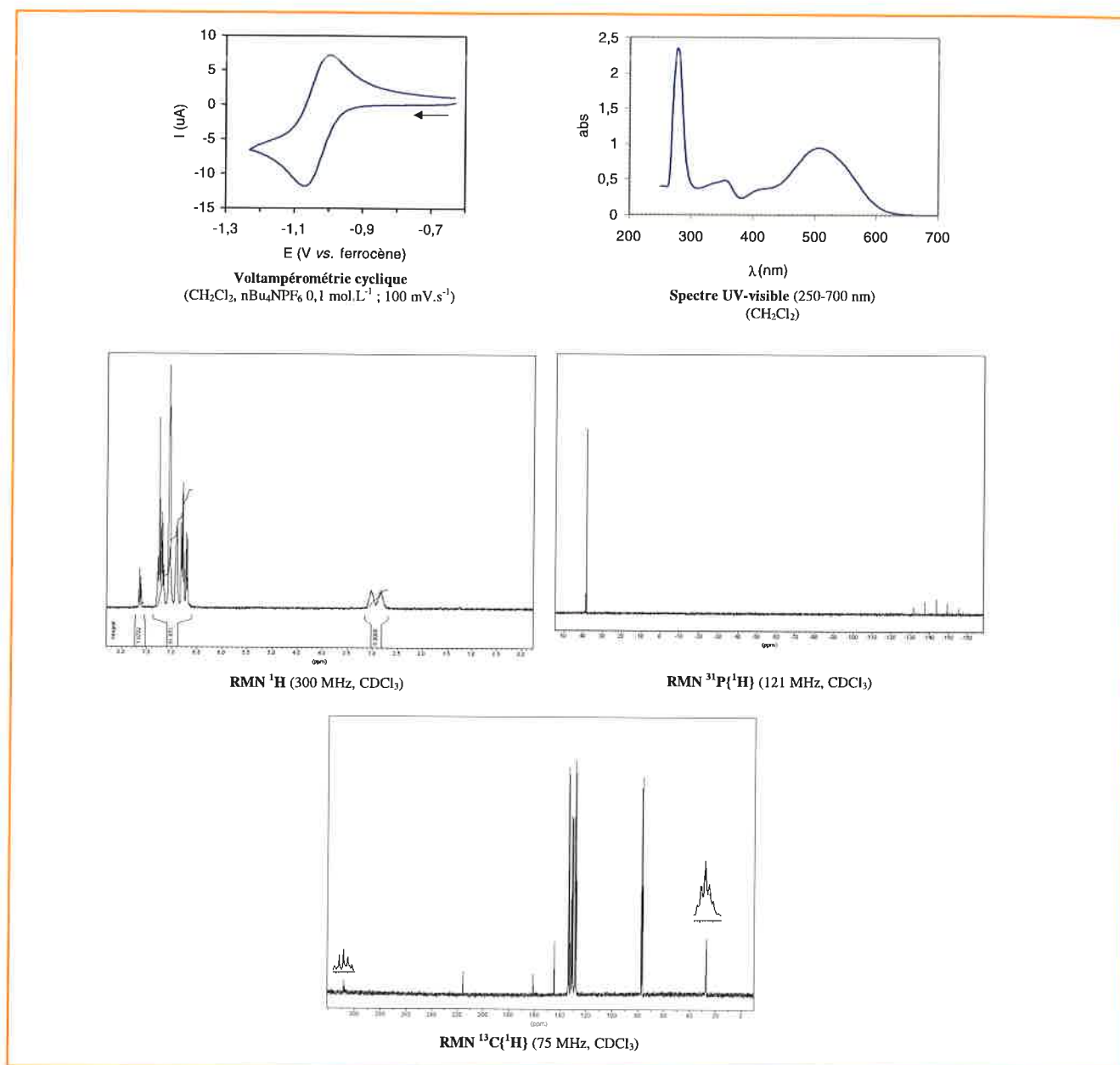


Figure 5 - Caractérisation de l'allénylidène  $trans\text{-}[\text{Cl}(\text{dppe})_2\text{Ru}^{\text{II}}=\text{C}=\text{C}=\text{zPh}_2]^+\text{.PF}_6^-$ .

Sur le spectre  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , pourquoi le signal correspondant au carbone  $\alpha$  de la chaîne carbonée est un multiplet ?

2) Combien d'électrons de valence possède le ruthénium ? Quel est son degré d'oxydation ?

3) Détailler le mécanisme de la réaction. Pourquoi utiliser un sel non coordonnant ? Quel est le rôle de chacun des solvants utilisés ?

4) Déterminer le rendement de la réaction.

$^2J_{\text{PC}} = 14 \text{ Hz}$  ; 215,4 (s, Ru=C=C) ; 161,0 (s, Ru=C=C=C) ; 144,7-127,9 (Ph) ; 27,3 (m, CH<sub>2</sub>,  $|^1J_{\text{PC}} + ^3J_{\text{PC}}| = 23 \text{ Hz}$ ).

IR : 1909 (s,  $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ ), 838 (s,  $\nu_{\text{PF}}$ )  $\text{cm}^{-1}$ .

UV/vis (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) :  $\lambda_{\text{max}}$  (e) 274 (49900,  $\pi \rightarrow \pi^*$  phényles), 505 (18000, MLCT) nm ( $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

Voltampérométrie cyclique : (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, nBu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub> 0.1 mol.L<sup>-1</sup>, 100  $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , V vs. ferrocène) :  $E_{\text{red}}^{\circ} = -1,03 \text{ V}$  ( $I_{\text{pa}}/I_{\text{pc}} \approx 1$ ,  $\Delta E_{\text{p}} \approx 60 \text{ mV}$ ) [5b].

## Résultats

Masse moyenne de produit brut obtenu : 215 mg (85 %).

Masse moyenne de cristaux obtenus : 180 mg (71 %).

RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  38,2 (s, PPh<sub>2</sub>) ; -143,6 (sept., PF<sub>6</sub>,  $^1J_{\text{PF}} = 710 \text{ Hz}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  7,68-6,62 (m, 50H, Ph) ; 3,02 (s, 4H, CH<sub>2</sub>) ; 2,83 (m, 4H, CH<sub>2</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  308,2 (quint., Ru=C,

## Mécanisme

La formation du composé allénylidène est expliquée par la dissociation d'une liaison Ru-Cl à l'aide d'un sel décoordonnant (NaPF<sub>6</sub>, précipitation de NaCl) suivie de la coordination  $\eta^2$  de la liaison C=C de l'alcool au métal. La migration [1,2] de l'hydrogène terminal conduit à l'intermédiaire  $\alpha$ -hydroxy vinylidène qui se déshydrate spontanément (figure 6).

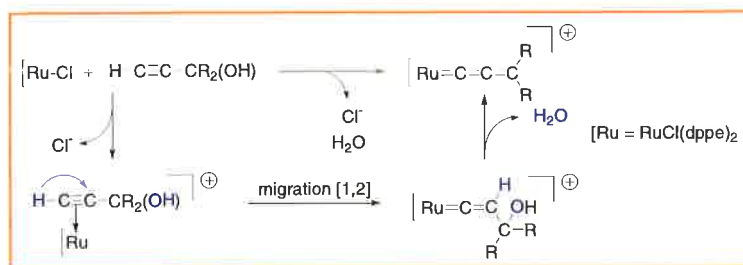


Figure 6.

## Préparation du précurseur *cis*-[Cl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>Ru<sup>II</sup>](2 étapes)

### Synthèse de [Cl<sub>2</sub>Ru(DMSO)<sub>4</sub>]

Dans un tube de Schlenk, placer 4,85 g (18,5 mmoles) de RuCl<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O et 20 mL de DMSO désaéré. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 30 min. A l'aide d'une spatule, bien écraser les agrégats pouvant se former. Le mélange est ensuite porté au reflux pendant 20 min, il devient progressivement rouge sombre. Le volume de DMSO est alors réduit sous vide jusqu'à l'apparition d'un précipité rouge sombre (chauffer légèrement si nécessaire pour diminuer le volume). Ajouter 60 mL d'acétone pour précipiter [Cl<sub>2</sub>Ru(DMSO)<sub>4</sub>]. Le solide obtenu est filtré à l'air, lavé avec de l'acétone (3 × 20 mL), du pentane (2 × 20 mL) et séché. On récupère environ 5,00 g d'une poudre jaune pâle (56 %).

### Synthèse de *cis*-[Cl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>Ru<sup>II</sup>]

Dans un tube de Schlenk, placer 5,00 g (10,3 mmoles) de [Cl<sub>2</sub>Ru(DMSO)<sub>4</sub>] et 8,20 g de dppe (20,6 mmoles). Après ajout de 250 mL de toluène distillé et désaéré, le mélange réactionnel est agité pendant 6 h à 80 °C, en milieu clos. La suspension jaune orangée devient jaune poussin. Après refroidissement à l'aide d'un bain de glace, le solide est filtré à l'air, lavé avec de l'éther (4 × 50 mL) et séché. On récupère 9,87 g (99 %) de *cis*-[Cl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>Ru<sup>II</sup>] sous forme d'une poudre jaune stable à l'air.

RMN <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 38,1 (t, <sup>2</sup>J<sub>PP</sub> = 20 Hz), 52,7 (t, <sup>2</sup>J<sub>PP</sub> = 20 Hz).

**NB**: Il peut se former un peu de composé *trans*-[Cl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>Ru<sup>II</sup>] (s, 45,3 ppm).

## Risques de la manipulation

La manipulation ne présente pas de risques particuliers si les règles élémentaires de sécurité sont respectées : utilisation d'un local ventilé (solvants), port de la blouse et des lunettes (montages en surpression et/ou sous vide).

## Liste des produits

**Manipulation** : NaPF<sub>6</sub> (irritant), 1,1-diphényl-prop-2-yne-1-ol (irritant), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (toxique), éther (toxique, inflammable), pentane (toxique, inflammable).

**Électrochimie** : nBu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub> (corrosif), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ferrocène (toxique).

**RMN** : CDCl<sub>3</sub> (toxique).

**Précurseur** : RuCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (corrosif), dppe (irritant), DMSO (irritant), toluène (toxique, inflammable), acétone (irritant, inflammable), éther, pentane.

## Liste du matériel

Une rampe vide/argon équipée, une pompe à palettes (pour 2 rampes), 2 tubes de Schlenk, 1 barreau aimanté, 1 agitateur magnétique, 1 seringue en verre (50 mL), 1 erlenmeyer, 1 canule filtrante, papier filtre, septums.

## Références

- [1] Bruce M.I., *Chem. Rev.*, **1998**, *98*, p. 2797.
- [2] (a) Bruneau C., Picquet M., Dixneuf P.-H., *Eur. J. Org. Chem.*, **2001**, p. 3891 ; (b) Bruneau C., Dixneuf P.-H., *Acc. Chem. Res.*, **1999**, *32*, p. 311.
- [3] Paul F., Lapinte C., *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, *178-180*, p. 431.
- [4] Fillaut J.-L., Price M., Johnson A.L., Perruchon J., *Chem. Commun.*, **2001**, p. 739.
- [5] (a) Touchard D., Haquette P., Daridor A., Romero A., Dixneuf P.-H., *Organometallics*, **1998**, *17*, p. 3844 ; (b) Rigaut S., Maury O., Touchard D., Dixneuf P.-H., *Chem. Commun.*, **2001**, p. 373 ; (c) Rigaut S., Monnier F., Mousset F., Touchard D., Dixneuf P.-H., *Organometallics*, **2002**, *21*, p. 2657.
- [6] (a) Rigaut S., Le Pichon L., Daran J.-C., Touchard D., Dixneuf P.-H., *Chem. Commun.*, **2001**, p. 1206 ; (b) Rigaut S., Massue J., Touchard D., Fillaut J.-L., Golhen S., Dixneuf P.-H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, p. 4513.



S. Rigaut



M. Hissler

**Stéphane Rigaut** est maître de conférences, **Daniel Touchard**, professeur et **Muriel Hissler**, maître de conférences au Laboratoire de chimie de coordination et de catalyse de Rennes\*.



D. Touchard

\* Laboratoire de chimie de coordination et de catalyse, UMR CNRS 6509, Institut de chimie de Rennes, Campus de Beaulieu, Université de Rennes 1, 35042 Rennes Cedex.  
E-mail : stephane.rigaut@univ-rennes1.fr

# Arsenic et vieilles querelles

Georges Meyer, Pierre Chevallier et Ivan Ricordel

## Summary

### Arsenic and old troubles

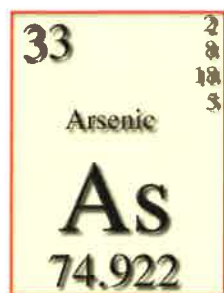
Nowadays, the high arsenic content of Napoleon's hair is well established. But is it the evidence of the chronic arsenic poisoning thesis supported by Sten Forshufvud in 1961? Before trying to answer this question, we present the main steps of the history of arsenic analytical toxicology, marked by two famous forensic cases. Today, physical methods using atomic or nuclear spectrometry have improved the sensitivity and the accuracy of analytical techniques. But the arsenic toxicology needs to take in consideration many other parameters, like environmental origin of anatomic samples. After measuring very high arsenic content by X-ray microfluorescence of some Napoleon's hair, we are not able to give some serious indications about the origin of this arsenic.

## Mots-clés

**Histoire, arsenic, analyse toxicologique, Marie Besnard, Napoléon.**

## Key-words

**History, arsenic, analytical toxicology, Marie Besnard, Napoléon.**



Le mot arsenic vient du grec « arsenikos » qui veut dire « mâle ». A l'instar d'Aristote, les anciens pensaient que le monde minéral était vivant et qu'il suivait par conséquent les mêmes lois que le monde animal ou végétal ; ainsi, il y avait des éléments « femelles » comme le cuivre et des éléments « mâles » comme l'arsenic. A l'état naturel, on le trouve essentiellement sous forme

de sulfures qui ont été utilisés dès l'Antiquité comme pigments de coloration avant que l'on découvre les propriétés toxiques de ses oxydes et, à partir des XII<sup>e</sup> et XIII<sup>e</sup> siècles, on en fabriqua des poisons. Ce sont d'ailleurs surtout des femmes qui vont « manipuler » cet élément « mâle » à des fins criminelles. Elles préfèrent le poison à l'arme à feu ou à l'arme blanche pour éliminer une rivale, un amant devenu « encombrant » ou un proche parent pour accéder à son héritage. Certaines préparations ou décoctions à base d'arsenic sont restées célèbres : l'aqua Toffana du nom de cette italienne qui aurait empoisonné plusieurs centaines de personnes dont deux papes, « la poudre de succession » utilisée dans l'« affaire des poisons » qui eut un très grand retentissement sous le règne de Louis XIV et faillit l'éclabousser lui-même. L'exécution de la marquise de Brinvilliers en 1676 fut suivie de trente-quatre autres condamnations entre 1679 et 1682.

Après l'ère de l'alchimie des « philosophes d'Hermès » va venir le « siècle des lumières » et l'avènement des sciences modernes parmi lesquelles la chimie figure en bonne place. On identifie les éléments, on les classe, on étudie leurs propriétés, on les analyse... L'arsenic et son principal dérivé l'anhydride arsénieux  $As_2O_3$  sont étudiés par le chimiste suédois Brandt en 1733. Un siècle plus tard, en 1836, le chimiste britannique James Marsh présente une méthode de séparation qui permet d'en faire le dosage, même à l'état de traces, dans la matière organique [1]. Ce sera le début de l'analyse toxicologique de l'arsenic et nous allons suivre ses progrès à travers deux affaires juridico-scientifiques exemplaires. Dans une deuxième partie, nous nous

intéresserons à « l'affaire Napoléon » et nous essaierons de dire, « en l'état actuel de la science », s'il y a lieu d'établir un lien formel entre la présence d'arsenic dans les cheveux de l'empereur et une « intoxication arsenicale antérieure à la mort ».

## La chimie entre au tribunal

### L'affaire « Lafarge » : les origines de l'analyse toxicologique

Nous sommes à Tulle en 1840. On juge Marie Capelle-Lafarge, une jeune parisienne distinguée, accusée sur dénonciation d'avoir empoisonné son mari Charles Lafarge, maître de forges brutal et vulgaire. Le poison suspecté est la mort-aux-rats, autrement dit l'arsenic. Le procès suscite un véritable engouement populaire à cause de la notoriété des personnages qui vont se succéder à la barre. Le Doyen Orfila est cité par l'accusation comme expert ; il occupe la chaire de médecine légale et de chimie médicale à la Faculté de médecine de Paris. On dit qu'il est le père de la toxicologie moderne car il est le premier à avoir étudié les applications de l'analyse chimique à la médecine légale. Au cours de ce procès, il est le premier expert à présenter ses résultats devant un tribunal, allant même jusqu'à effectuer des expériences au Palais de Justice où une odeur « pestilentielle » se dégage au point d'incommoder le public. Pour Orfila, il n'y a aucun doute que la présence d'une quantité importante d'arsenic dans le corps de Lafarge accable l'accusée, mais il est contré par un certain Raspail cité comme contre-expert. Orfila se justifie : l'arsenic est décelé par la méthode des anneaux de Marsh mise au point récemment et d'après lui, les résultats obtenus par cette méthode ne souffrent aucune contestation. Chacun pense que Marie Capelle va finir à l'échafaud et pourtant, à grands coups d'éloquence, Raspail va sauver la tête de l'accusée en mettant en doute les résultats d'Orfila : « *De l'arsenic, Monsieur Le Président, j'en trouverais jusque dans votre fauteuil...* ». Dans le doute, le tribunal condamne l'accusée à la réclusion à vie et elle sera graciée par le prince

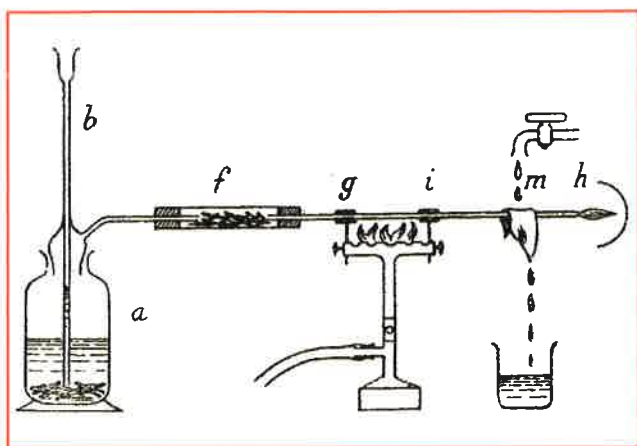


Figure 1 - Appareil de Marsh pour reconnaître l'arsenic dans le cas d'empoisonnement.

Cet appareil est en fait celui mis au point par G. Bertrand [2] mais inspiré de l'appareil de Marsh. L'échantillon minéralisé est introduit en *b* dans le « générateur » d'hydrogène (*a*). Les hydrures formés sont décomposés dans la partie chauffée *gi* et l'arsenic se dépose sous forme d'anneau dans la partie refroidie en *m* (gravure extraite du « Troost et Péchard » [3]).

Louis-Napoléon en 1852. A travers son échec, Orfila en déduit qu'il n'a pas su convaincre les juges de l'acceptation – on dirait aujourd'hui validation – de ses méthodes et de ses résultats. Cette affaire marque cependant la fin des procès en sorcellerie et les débuts de la science toxicologique : désormais, toute affaire d'empoisonnement va être soumise à une enquête toxicologique et la présence d'arsenic sera authentifiée et « quantifiée » par la méthode de Marsh qui est la référence et va le rester pendant plus d'un siècle (voir figure 1).

#### De la méthode de Marsh (1836) [1] à celle de Cribier (1921) [6]

L'essai d'arsenic de Marsh, tel qu'il fut d'abord appelé, est réputé pour sa sensibilité. La méthode consiste à minéraliser l'échantillon, transformer les composés d'arsenic en hydrures gazeux par de l'hydrogène naissant pour finalement décomposer cet hydrures par action de la chaleur à l'abri de l'air et déposer ainsi l'arsenic métallique qui va former un anneau brillant sur la paroi interne du tube refroidi à son extrémité distale par un courant d'eau. Pour s'assurer de la présence de l'arsenic, il suffit de l'oxyder en chauffant : il se forme de l'anhydride arsénieux qui dégage une forte odeur d'ail caractéristique. La méthode est extrêmement sensible et permet de doser des traces d'arsenic en pesant le dépôt métallique appelé aussi « miroir » et en le comparant avec des dépôts obtenus avec des quantités connues d'arsenic. Pour être sûr des résultats, il faut cependant s'assurer que les réactifs sont dépourvus d'arsenic – par exemple le zinc et l'acide sulfurique utilisés pour fabriquer l'hydrogène naissant – et surtout que l'échantillon est dépourvu d'antimoine car ce dernier élément très proche chimiquement de l'arsenic donne le même dépôt métallique par le test de Marsh.

Des perfectionnements de l'appareil de Marsh sont décrits en particulier par G. Bertrand dans son mémoire « sur la recherche et sur la preuve de l'existence de l'arsenic chez les animaux » [2]. La méthode connaîtra des variantes mais toutes reposent sur la formation initiale de l'hydrures d'arsenic gazeux appelé aussi arsine. Rose montre en 1840 que l'arsine réagit avec un papier imprégné d'une solution de

chlorure mercurique en donnant une coloration jaune [4]. Mais ce même auteur signale que l'hydrures d'antimoine donne la même coloration. La bibliographie sur le dosage de l'arsenic est imposante et on peut retenir la méthode de Gutzeit [5] et celle de Cribier décrite en 1921 [6]. Ce dernier propose de tremper le papier imprégné de bichlorure de mercure dans une solution d'iodure de potassium qui va colorer la tache jaune en brun et dissoudre l'excès de mercure sous forme d'iodomercurate. La méthode de Cribier, très utilisée en toxicologie pour sa sensibilité, a permis de faire des mesures sur des cheveux de sujets « normaux » ; des résultats publiés en 1953 s'échelonnent de 0 à 0,7 mg d'arsenic pour 100 g, soit de 0 à 7 ppm [7].

#### L'affaire « Marie Besnard » : l'arsenic au centre du débat

Orfila était assurément un précurseur mais on peut dire qu'un siècle plus tard, l'analyse toxicologique de l'arsenic a fait très peu de progrès. On va retrouver les mêmes polémiques et débats de prétoire dans un autre procès très célèbre, l'affaire « Marie Besnard » (1949-1961) [8-9]. Cette fois, nous sommes à Loudun dans la Vienne en 1949 : Marie Davailaud, épouse Besnard, que l'on surnommera plus tard « la bonne dame de Loudun » ou au contraire « l'empoisonneuse » est convoquée au commissariat de police pour « une affaire la concernant ». Il s'agit en fait de vérifier des ragots de village qui l'accusent d'avoir aidé son époux Léon Besnard à passer de vie à trépas. Le 10 mai 1949, le parquet ordonne l'exhumation du corps et le Docteur Bérout, toxicologue renommé de l'époque, venu spécialement de Marseille, procède à l'autopsie. Dans son laboratoire, il mesure une quantité anormale d'arsenic en particulier dans les viscères. Le 21 juillet, Marie Besnard est inculpée d'empoisonnement sur la personne de son mari et écrouée à la maison d'arrêt de Poitiers. L'affaire « Marie Besnard » qui va défrayer la chronique judiciaire pendant plus de douze années vient de commencer. Tout d'abord, la police fait exhumer d'autres corps de la famille Besnard, treize au total, et les fait analyser par le même Docteur Bérout. Les résultats font sensation dans la presse : les treize corps contiennent de l'arsenic en très grande quantité. Le même Dr Bérout assure que l'appareil de Cribier utilisé pour détecter la présence de traces d'arsenic dans les terres du cimetière a donné des résultats négatifs. L'analyse des terres est très importante et l'avocat de la défense M<sup>e</sup> Gautrat n'a pas manqué de le relever : « Pour être valable, une analyse toxicologique doit se préoccuper de doser l'arsenic contenu dans la terre des tombes et dans les matières diverses entourant le cadavre » ; mais il note également avec à-propos : « Pourquoi cette analyse serait-elle nécessaire si l'arsenic ne pouvait contaminer le cadavre ? ». Cette question essentielle prendra plus tard toute son importance.

L'accusation d'empoisonnement repose essentiellement sur les expertises de Bérout dont les mesures ne semblent pas être contestables. Et pourtant... depuis l'affaire Lafarge, un siècle plus tôt, les méthodes n'ont pas changé et ce sont toujours les fameux anneaux de Marsh qui permettent de déceler la présence d'arsenic et décréter s'il y a ou non intoxication. Depuis un siècle, on s'est peu préoccupé de l'ambiguïté entre les anneaux d'arsenic et d'antimoine, mais cette ambiguïté va être astucieusement exploitée par l'avocat de la défense M<sup>e</sup> Gautrat pour confondre le Dr Bérout.

L'incident se passe au cours du premier procès de Marie Besnard en février 1952, à Poitiers. Bérout se vante de reconnaître les anneaux de l'arsenic et ceux de l'antimoine : l'avocat lui présente six tubes en lui demandant quels sont ceux qui contiennent de l'arsenic. L'expert prend les tubes, les observe un par un et non sans hésiter, il en tend deux d'entre eux à l'huissier. Mais c'était un piège car aucun des tubes ne contient d'arsenic. Ce sont tous des anneaux d'antimoine. Cet épisode va entamer considérablement la crédibilité des scientifiques et on commence à examiner au plus près les rapports. On relève de nombreuses anomalies, des erreurs d'étiquetage, des disparitions de scellés, des scellés surnuméraires, des contradictions même entre les rapports d'autopsie et ceux de toxicologie du Dr Bérout. Nous sommes en février 1952 : la carrière du médecin légiste s'arrête là. La Cour ordonne un complément d'enquête. La veuve Besnard, elle, reste en prison avant d'être transférée à Bordeaux en 1953. Son procès est renvoyé devant la Cour d'Assises de Bordeaux pour « cause de sécurité publique ».

### **Le second procès de Marie Besnard : une querelle d'experts**

Le parquet nomme trois nouveaux experts de grande renommée, spécialistes de la toxicologie de l'arsenic : les docteurs Fabre, Kohn-Abrest et Henri Griffon. Ce dernier, directeur du Laboratoire de la préfecture de police de Paris, est connu pour avoir été le premier à utiliser une méthode nucléaire pour détecter la présence « anormale » d'arsenic dans des cheveux [10]. On exhume à nouveau les corps, toujours dans la plus grande confusion. Le caveau de Léon Besnard est inondé ; on vide son cercueil sans faire de prélèvement d'eau. Au bout d'un an, les experts rendent leur rapport. La seule nouveauté intéressante concerne la découverte d'arsenic dans les terres du cimetière contrairement à ce qu'avait indiqué le Dr Bérout. Le deuxième procès a lieu à Bordeaux en mars 1954. Les nouveaux témoignages n'apportent rien et n'intéressent pas le nombreux public qui attend avec impatience le vrai débat sur l'arsenic. Henri Griffon s'attarde sur ses travaux relatifs au dosage de l'arsenic dans les cheveux ; il présente une mèche des cheveux de Léon Besnard mais Marie ne les reconnaît pas. Les experts sont maladroitement, n'admettent aucune contestation de leurs résultats, refusent la discussion avec les contre-experts, cités uniquement comme témoins. Ces derniers : MM. Keilling, Ollivier, Le Peintre et Truffert vont jouer un rôle très important dans la suite de l'affaire. Ils vont impressionner la Cour et les jurés par des démonstrations d'une grande qualité. Par exemple, il existe un débat sur la solubilité de l'arsenic : ce débat est très important quand on sait que le caveau de Léon Besnard était rempli d'eau et que le sol du cimetière contient de l'arsenic. Là où les experts et en particulier H. Griffon ont catégoriquement nié la solubilité de l'arsenic, les contre-experts démontrent comment il peut devenir soluble, même dans l'eau de pluie, et se fixer définitivement sur la matière organique des cadavres, y compris les cheveux. M. Truffert explique calmement comment des cheveux, trempés dans une solution arsenicale, retiennent de manière stable le métalloïde et le fixent définitivement à tel point qu'aucun lavage ne parvient à l'en extraire. Enfin, et ce sera le coup de grâce pour l'accusation, on apprend que sur les terres voisines des tombes, on cultive des chrysanthèmes mais aussi des pommes de terre et que pour tuer les doryphores, on traite copieusement les solanacées avec des arséniate.

Le 1<sup>er</sup> avril 1954, la Cour rejette les conclusions des parties civiles mais ordonne qu'il soit procédé à une nouvelle expertise. Marie Besnard est remise en liberté après versement d'une caution.

### **L'affaire Marie Besnard : le dénouement**

Mais le calvaire de Marie Besnard devenue désormais « la bonne dame de Loudun » n'est pas terminé. L'arrêt de la Cour d'assises de Bordeaux du 1<sup>er</sup> avril 1954 demande aux experts de dire s'il est possible, « en l'état actuel de la science », de conclure à l'existence d'intoxications « arsenicales antérieures à la mort ». L'affaire se complique et ne sera jugée que sept ans plus tard. En attendant, en 1955, on nomme difficilement trois nouveaux experts : M. Lemoigne, spécialiste de la chimie du sol, M. Truhaut, toxicologue, et... Frédéric Joliot-Curie, sans doute choisi pour sa très grande notoriété. Joliot connaît bien Henri Griffon qui lui procure la fameuse mèche de cheveux de Léon Besnard, même si le mystère subsiste quant à son origine. Mais nous sommes déjà en 1958 et la santé de Joliot se dégrade très rapidement. Il décède au mois d'août et sera remplacé par son adjoint au Laboratoire du Collège de France, le physicien Pierre Savel. Ni l'un ni l'autre n'ont eu le temps ni peut-être l'envie de se mêler au débat qui continue autour de l'arsenic. Depuis 1954, M<sup>e</sup> Gautrat réclame les notes et cahiers de laboratoire de H. Griffon. Ce dernier, qui n'apprécie que fort peu la démarche de l'avocat, tardera à les remettre et ils ne seront versés au dossier que le 16 février 1961. Les documents qu'il a été contraint de livrer aux cotes du procès sont en fait des notes de laboratoire et des brouillons. Il n'est donc pas étonnant d'y trouver des ratures et des surcharges. Toutefois, on lui reprochera publiquement ces négligences et de ne pas s'appliquer à lui-même les préceptes qu'il enseigne à ses élèves. On tentera même de le déstabiliser, avec succès d'ailleurs, en le soupçonnant d'avoir éliminé certains scellés encombrants après ses analyses.

Pendant ce temps, les contre-experts poursuivent leurs travaux. Finalement, on arrive au troisième et dernier acte du procès qui se déroule à Bordeaux du 20 novembre au 12 décembre 1961. En dépit des conclusions des experts qui considèrent que six des treize cadavres contiennent des traces d'arsenic, Marie Besnard sera interrogée sur la mort suspecte de onze personnes de son entourage. Un long débat reprend qui va encore porter essentiellement sur les résultats des experts de 1954. On retrouve Kohn-Abrest qui reste fidèle à la méthode de Marsh et Griffon qui prétend que la méthode Cribier est plus sensible. Les avocats de la défense veulent prouver que les experts de 1954 se sont trompés, que beaucoup trop d'erreurs ont été commises. Les contre-experts vont finir le travail ; ils démontrent à nouveau la solubilité de l'arsenic dans son cycle « biogéochimique ». M. Truffert, à nouveau très clair et sûr de lui, relate ses expériences sur la fixation de l'arsenic par un cheveu trempé dans une eau très légèrement chargée. Il se propose même de refaire ses expériences en public. De tels arguments effacent les derniers doutes et M<sup>e</sup> Gautrat mettra la touche finale avec beaucoup de brio et d'assurance : « ... *tout le procès de Marie Besnard repose sur un mensonge et sur une erreur* ». Le 13 décembre 1961, tous les chefs d'accusation contre Marie Besnard sont rejetés ; elle est acquittée. Marie Besnard retournera finir ses jours dans sa bonne ville de Loudun où elle décèdera en 1980. Peu rancunière, elle a légué son corps à la Faculté de médecine.

### Quand les neutrons s'en mêlent

A la suite du procès de 1954, Joliot sera donc contacté avec l'espoir que ce grand scientifique puisse, en dehors des passions, éclairer le tribunal sur le problème du dosage de l'arsenic. Il en parle à son adjoint et chimiste de confiance, Pierre Süe, qui met alors au point une nouvelle méthode de dosage spécifique de l'arsenic par activation neutronique. Cette méthode est décrite par le Dr Michon, médecin légiste, lors d'un colloque de Saclay en 1955 [11]. Sous l'action des neutrons, l'arsenic contenu dans l'échantillon irradié va donner une petite quantité de « radioarsenic »  $^{76}\text{As}$ , radioactif, émetteur  $\gamma$  de 26 heures de période. Après l'irradiation, une quantité connue d'arsenic stable est rajoutée comme entraîneur pour mesurer le rendement de l'extraction de l'arsenic du milieu réactionnel obtenue par distillation sous forme de chlorure  $\text{AsCl}_3$  et précipitation sous forme « métallique ». La séparation chimique de l'arsenic est indispensable pour faire une mesure correcte de la radioactivité de  $^{76}\text{As}$  par spectrométrie  $\gamma$  car, au cours de l'irradiation, de nombreux autres éléments présents dans le cheveu sont également activés et leurs rayonnements créent un fond continu important ou interfèrent avec ceux de l'arsenic. Les éléments traces les plus gênants sont le brome et encore une fois l'antimoine ; en effet, les détecteurs scintillateurs utilisés à cette époque pour mesurer les rayonnements  $\gamma$  n'ont pas une résolution en énergie suffisante et ils confondent les photons émis par  $^{76}\text{As}$  à 559 keV avec ceux de  $^{82}\text{Br}$  à 554 keV et ceux de  $^{122}\text{Sb}$  à 564 keV. La mesure de spectrométrie se fait donc après séparation chimique sur le précipité et le calcul de son activité spécifique permet de remonter à la concentration en arsenic. Cette méthode permet de doser des quantités d'arsenic de l'ordre du dixième de nanogramme, soit une sensibilité dix mille fois supérieure à la méthode de Cribier. Elle a sans doute été utilisée dans l'affaire « Marie Besnard » mais uniquement sur la mèche de cheveux présumée de Léon Besnard. La partie civile clamera au procès de 1961 que Joliot a trouvé de l'arsenic dans les cheveux du mari défunt, mais le savant ne pourra témoigner car il est décédé en 1958 : « ... ce grand français ne peut plus rien dire et tout le monde va le faire parler » écrira Pierre Dumas dans le journal *Sud-Ouest*.

### L'affaire « Napoléon »

Le procès de Marie Besnard a montré l'importance accordée aux cheveux dans les analyses toxicologiques concernant l'arsenic. Cette importance est peut-être d'ailleurs excessive car on sait que la présence d'arsenic dans les viscères et les cheveux ne suffit pas pour prouver qu'il y a eu intoxication. Les apports du procès de Marie Besnard à la toxicologie et à la médecine légale sont considérables et doivent désormais inciter les experts à la prudence. Pourtant, le dernier procès n'a pas encore eu lieu en octobre 61 lorsqu'un stomatologue suédois, Sten Forshufvud, publie dans *Nature* de bien curieux résultats qui font apparaître que les cheveux de Napoléon, prélevés sans doute après sa mort, contiennent une quantité anormale d'arsenic. Les mesures ont été effectuées par Hamilton Smith en analyse par activation neutronique à l'université de Glasgow [12]. Le plus étonnant, c'est que H. Smith a également mesuré une teneur élevée de 10 ppm dans une mèche de cheveux de l'empereur datant de 1805 offerte au peintre Isabey. Forshufvud en conclut que Napoléon est mort d'une intoxication chronique à l'arsenic depuis 1805 et que cette

intoxication est d'origine criminelle [13]. Il ne reste plus qu'à trouver un accusé, mais on va bientôt en trouver un. L'affaire Napoléon commence.

Nous avons choisi délibérément de regarder cette affaire comme un procès en le comparant aux deux précédents. Une première constatation s'impose : le dossier de l'accusation repose uniquement sur la présence « anormale » d'arsenic. On pourrait déjà discuter du niveau « normal » de l'arsenic dans un cheveu prélevé en 1805 ou 1820. Ensuite, la cohérence de l'hypothèse d'un empoisonnement implique de proposer un accusé. C'est ici qu'intervient un homme d'affaires canadien du nom de Ben Weider, séduit par la thèse de Sten Forshufvud et grand admirateur de l'empereur. Il « ouvre » le procès en 1978 en désignant un coupable auquel personne n'avait pensé : Charles de Montholon, accusé d'avoir assassiné l'empereur pour le compte des royalistes. Selon la méthode employée par la Marquise de Brinvilliers, il aurait empoisonné l'empereur à petit feu. Il est difficile à Montholon de se défendre, d'autant plus que l'un de ses descendants, François de Candé-Montholon témoigne contre lui. Ben Weider n'a aucun mal à trouver des témoins à charge. Parmi eux, le Professeur Maury accuse Montholon d'avoir empoisonné l'empereur par dépit amoureux ; sa femme Albine aurait cédé aux avances de Napoléon. On se souvient que Marie Besnard fut accusée d'une liaison avec son valet de ferme. Toujours la rumeur incontrôlable, invérifiable ; mais l'Histoire ne s'écrit pas sur des rumeurs et les historiens rejettent ces hypothèses plus ou moins fantaisistes [14]. Quant aux médecins, ils sont pour le moins sceptiques devant cette thèse de l'empoisonnement. Les signes cliniques et anatomiques du cancer de l'estomac décrits dans les multiples mémoires ou les rapports d'autopsie que les contemporains de Napoléon nous ont légués ne laissent que peu de doutes sur les raisons véritables de sa mort. Toutefois, il reste que l'arsenic est présent dans les cheveux de l'empereur. Il demeure, depuis 1961, comme au procès de Marie Besnard, au centre d'un débat régulièrement alimenté par les toxicologues dès qu'un cheveu devient accessible à leur savant exercice.

Pour défendre Montholon, les contre-experts auraient beau jeu de démontrer que la présence d'arsenic dans les cheveux n'est pas une preuve d'intoxication, encore moins d'empoisonnement. Pour prouver l'intoxication, il faudrait tout d'abord savoir si le toxique est endogène et donc s'il a été ingéré par la victime. Mais les poudres qui permettaient à cette époque de conserver maintes reliques précieuses ne contenaient-elles pas de l'arsenic ? A-t-on utilisé ces poudres pour conserver les cheveux de l'empereur ? Il est également bien établi que l'on administrait au XIX<sup>e</sup> siècle des sels arsenicaux pour de nombreuses indications thérapeutiques des plus variées : d'abord comme fortifiants et stimulants, mais aussi contre certaines maladies vénériennes, parasitaires, cutanées ou cancéreuses. Les raisons d'enrichir son patrimoine biologique arsenical étaient nombreuses au XIX<sup>e</sup> siècle ; elles le sont d'ailleurs encore au XXI<sup>e</sup> siècle dans certaines régions du globe où les populations sont menacées par de très sévères pollutions en arsenic des nappes phréatiques (Inde, Bangladesh, Mexique). Les hypothèses candidates à l'explication de la présence d'arsenic dans les capillaires impériaux ne manquent pas, notamment entre 1805 et 1815, période durant laquelle l'hypothèse de l'empoisonnement apparaît peu crédible. Hormis l'arsenic, on sait par les mémoires de Marchand ou de Saint-Denis qui en décrivent par le menu la chronologie des causes et des effets, que du calomel contre la constipation et de

l'antimoine comme émétique furent prescrits à l'empereur durant les derniers jours de sa vie à Sainte-Hélène. L'hypothèse d'une polyintoxication arsenicale, antimonique et mercurielle, aggravée par les cyanures d'un sirop d'orgeat, n'a pas manqué d'être émise par certains défenseurs de la thèse de l'assassinat. Fort heureusement, il ne peut plus y avoir de confusion entre l'arsenic et l'antimoine comme par le test des anneaux de Marsh et toutes les analyses récentes confirment les premiers résultats de Hamilton Smith : il s'agit bien d'arsenic et non d'antimoine que l'on mesure en excès dans les cheveux de Napoléon.

Finalement, comme disait Raspail, l'arsenic est partout, dans les aliments, dans les médicaments, mais aussi chacun sait qu'il était présent dans les pigments des papiers peints et dans les émanations et poussières du feu de cheminée ; cela pouvait être le cas à Longwood dans la chambre froide et humide où Napoléon se chauffait à la chaleur d'un poêle qui était maintenu allumé en permanence. L'arsenic abondait également dans les produits raticides déjà utilisés à cette époque ou même dans les plombs et la poudre du fusil qu'utilisait Napoléon pour tuer les rats qui pullulaient sur l'île. Tout le monde vous dira que l'île de Sainte-Hélène est volcanique et donc que les terres et les eaux pouvaient être enrichies en arsenic etc... On se demande finalement comment Napoléon a pu survivre dans un tel environnement hostile sans parler des membres de son entourage dont certains pouvaient avoir de bonnes raisons de lui en vouloir. Mais cela suffira-t-il pour acquitter Montholon ?

### Quand les photons remplacent les neutrons

Le débat « historico-scientifique » concernant la thèse de l'empoisonnement de Napoléon est à nouveau centré sur l'arsenic. Nous avons été brièvement impliqués dans ce débat à la demande de I. Ricordel, directeur du Laboratoire de toxicologie de la préfecture de police de Paris, ce même laboratoire que dirigea H. Griffon de 1941 à 1970. Isabelle Bourdial, journaliste à *Science et Vie*, est à l'initiative de ce projet de recherche. En effet, à l'issue d'un débat au Sénat faisant suite à la parution de l'ouvrage de Ben Weider « *Napoléon est-il mort empoisonné ?* » [15], elle est consciente de la fragilité des arguments scientifiques étayant la thèse de l'empoisonnement. Elle sollicite alors I. Ricordel pour qu'il prenne la direction scientifique d'une étude sérieuse susceptible d'apporter un nouvel éclairage et, si possible, des précisions techniques irréfutables concernant la signification des concentrations d'arsenic mesurées dans les cheveux. Elle parvient à se procurer auprès de deux collectionneurs, Pierre Jean Chalançon et Jean Tranier, des mèches de cheveux prélevées sur la tête impériale à différentes époques de sa vie, mais aussi des cheveux de ses trois sœurs.

Pour les mesures, nous avons envisagé dans un premier temps l'analyse par activation neutronique que nous avons pratiqué au Laboratoire Pierre Süe à Saclay pendant de nombreuses années. Nous connaissions les résultats du dosage de l'arsenic dans un cheveu de l'empereur, effectué par nos collègues du CEA, S. Ayraut et D. Piccot, pour le compte de M. Maury, du parti des « empoisonnistes ». D'ailleurs, les teneurs modestes mesurées par nos collègues – 4 à 5 ppm – n'ont pas désarmé M. Maury, déjà convaincu de la culpabilité de Montholon. Cependant, la méthode d'analyse par activation est lourde puisqu'elle nécessite une irradiation en réacteur nucléaire. De plus, l'irradiation altère l'échantillon mais surtout, en dépit d'une meilleure résolution

des spectromètres gamma actuels, on est toujours contraint de séparer l'arsenic du milieu pour obtenir une sensibilité suffisante. La méthode est donc destructrice et ceci interdit toute mesure répétitive sur le même échantillon. Nous proposons alors une autre voie d'approche par une nouvelle technique, la microfluorescence X au rayonnement synchrotron, pratiquée au LURE à Orsay par P. Chevallier [16]. Cette technique possède un double avantage : elle est non destructive et on peut donc envisager des mesures répétitives ou d'autres investigations sur le même échantillon ; par ailleurs, elle est ponctuelle et va donc permettre de réaliser un profil de variation de la concentration en arsenic le long du cheveu, ce qui est la seule méthode pour tenter d'identifier une intoxication aiguë. Il est en effet bien connu des toxicologues que le cheveu de tout individu enregistre la consommation en xénobiotiques, dont l'arsenic, au rythme de sa croissance, soit environ 1 mm tous les deux ou trois jours. L'arsenic véhiculé par le sang va diffuser des vaisseaux capillaires de la papille vers les cellules du cheveu en formation, à la base du canal médullaire. Il est alors définitivement fixé à la kératine de ces cellules particulières par l'intermédiaire de ponts « disulfures » et il va migrer comme elles lors de la pousse du cheveu. Un empoisonnement par intoxication aiguë devrait donner un pic de concentration en arsenic correspondant au jour de l'ingestion.

### La méthode de Griffon et Barbaud

Déjà en 1951, H. Griffon – celui du procès Besnard – proposait une méthode originale de recherche non destructive mais semi-quantitative de l'arsenic le long d'un cheveu par activation aux neutrons de réacteur [10]. La réaction d'activation  $^{75}\text{As}(n,\gamma)^{76}\text{As}$  étant très favorable, il était possible de localiser une quantité anormale d'arsenic par les émissions de photons  $\gamma$  de  $^{76}\text{As}$ . L'expérience fut présentée par Joliot en séance de l'Académie des sciences : le cheveu était irradié aux neutrons de la pile Zoë et à l'aide d'un compteur Geiger muni d'un collimateur en plomb, on mesurait les variations de radioactivité le long du cheveu. Le problème, c'est que le compteur mesurait toute la radioactivité sans distinguer l'émetteur. Or dans un cheveu, plusieurs éléments s'activent très bien dans un flux de neutrons, surtout Na et Cu et certains éléments traces tels que Br, I, etc. sans oublier Sb. On retrouve l'antimoine décidément inséparable de l'arsenic. Trop de doutes et d'incertitudes feront de la « méthode de Griffon et Barbaud » une technique « élégante » mais inutilisable quantitativement.

### La microfluorescence X

Au lieu d'irradier le cheveu aux neutrons, nous allons le « balayer » par un faisceau de photons produits par le rayonnement d'un anneau synchrotron. Ce rayonnement X a la particularité d'être très intense et directionnel. On peut donc le faire passer par un monochromateur pour sélectionner l'énergie des photons qui vont exciter l'échantillon. Dans le cas du dosage de l'arsenic, c'est très important car on retrouve la raie de fluorescence  $K_{\alpha}$  et celle d'une fluorescence L du plomb très exactement à la même énergie de 10,5 keV. La résolution physique de cette interférence est obtenue par un faisceau à 12,5 keV en sortie du monochromateur qui va permettre d'ioniser les couches K de l'arsenic sans « toucher » aux niveaux L du plomb. Le faisceau d'environ 1 mm de diamètre est suffisamment

intense pour pouvoir exciter un échantillon de petite taille tel qu'un cheveu sur toute son épaisseur. L'intensité de la raie X de fluorescence permet de calculer la concentration en As dans la matière « irradiée ». En déplaçant l'échantillon devant le faisceau avec un pas de 1 mm, on va pouvoir établir un profil complet de la concentration en As le long du cheveu. La limite de détection est de l'ordre de la ppm, ce qui correspond à mesurer un picogramme ( $10^{-12}$  g) dans une section de 1 mm d'un échantillon de cheveu qui pèse moins de 1 mg. Cette sensibilité nous permet de mesurer avec précision des teneurs physiologiques « normales » de 0,1 à 1 ppm à partir d'un seul cheveu. Nous avons effectué près d'un millier de mesures en 2001 et 2002 sur 16 cheveux de quatre origines différentes « supposés avoir été prélevés sur le crâne de Napoléon 1<sup>er</sup> » : les premiers appartiennent à des mèches coupées en 1805, puis une autre mèche coupée à l'île d'Elbe en 1814, enfin une autre pendant son séjour à Sainte-Hélène à une date non précisée et une dernière plus importante prélevée le 6 mai 1821, le lendemain de sa mort ; nous avons également analysé des cheveux « présumés » de ses sœurs Pauline, Caroline et Élysa.

## Discussion

Nos résultats ont été commentés par I. Ricordel au cours de la conférence de presse qui s'est tenue le lundi 28 octobre 2002. En résumé, on peut dire tout d'abord qu'il y a de l'arsenic dans tous les échantillons de cheveux analysés à une teneur supérieure à ce qui est admis aujourd'hui comme une teneur normale, y compris dans les cheveux de 1805 (11 ppm) et de 1814 (60 ppm). On remarque une grande dispersion des résultats entre 10 et 100 ppm. On confirme le résultat obtenu par H. Smith qui mesurait 10 ppm dans un cheveu de 1805. Il y a aussi de l'arsenic dans les cheveux des sœurs de l'empereur. A partir des profils de concentration le long d'un cheveu, on peut noter que l'arsenic est présent chaque jour et sans variations notables de concentration ; en d'autres termes, il n'apparaît pas de pic qui témoignerait d'une absorption massive d'arsenic pendant une courte durée. Enfin, dans certains échantillons, on a pu détecter d'autres toxiques en particulier du mercure et de l'or.

Le caractère hétérogène de nos résultats dans les cheveux d'une même mèche de l'empereur prélevée après sa mort, la valeur très élevée des concentrations mesurées sur les cheveux de 1805 et surtout de 1814 et, plus étonnant, les taux relativement importants déterminés dans les cheveux des sœurs de Napoléon, rendent toute interprétation difficile. Pour appréhender sérieusement la signification de tels résultats, il apparaît nécessaire de mener une étude approfondie sur les mécanismes d'incorporation de l'arsenic exogène dans les cheveux. Ce souci s'était déjà exprimé dans les observations des experts et scientifiques appelés à la barre lors du procès de Marie Besnard. Le débat est encore très ouvert sur le sujet et des avis opposés de scientifiques sont encore aujourd'hui formulés avec la même conviction dans la presse internationale [17-19]. Finalement, pour parodier l'arrêt de la Cour d'assises de Bordeaux du 1<sup>er</sup> avril 1954, nous sommes réduits « en l'état actuel de la science » à l'impossibilité de conclure sur l'existence « d'intoxications arsenicales antérieures à la mort » de Napoléon.

Comme l'a écrit Jean Tulard, historien spécialiste de l'ère napoléonienne : « le travail de l'historien s'arrête lorsqu'il n'y a plus de preuve ». Or, dans cette affaire comme d'ailleurs

dans celle de Marie Besnard, il n'y a pas l'ombre d'une preuve de l'origine criminelle de la présence de l'arsenic, aussi indubitable soit-elle. Il convient donc d'être très réservé sur la présence de ce toxique qui a « empoisonné » tant de procès. Dans les affaires Lafarge et Besnard, les principales victimes de l'arsenic ont peut-être finalement été les accusées Marie Capelle et Marie Besnard. Dans l'affaire Napoléon, un dossier d'accusation a été monté de toutes pièces ; on a inventé un « accusé » posthume, le comte de Montholon, personnage parfois décrié par les historiens, mais cela n'en fait pas pour autant un coupable. Dans ces trois affaires, c'est avant tout la rumeur qui a conduit des magistrats à instruire ou des passionnés à assouvir des convictions. Marie Capelle et Marie Besnard en ont payé le prix fort. Le Maître de forges Charles Lafarge serait mort de la typhoïde et Léon Besnard, l'époux de la « bonne dame de Loudun » d'une crise d'urémie. L'empereur Napoléon, quant-à-lui, aurait été victime des complications d'un cancer de l'estomac.

## Références

- [1] Marsh J., *Journal de Pharmacie*, **1837**, 23, p. 553.
- [2] Bertrand G., *Ann. Chim. et Phys.*, **1903**, 29, p. 242.
- [3] Troost L., Péchard L., *Traité Élémentaire de Chimie*, Masson et Cie, 24<sup>e</sup> édition, **1948**.
- [4] Rose H., *Pogg. Ann.*, **1840**, 51, p. 423.
- [5] Gutzeit G., *Pharm. Zeitung*, **1879**, 24, p. 263.
- [6] Cribier J., *Journ. Pharm. Chim.*, **1921**, 24, p. 241.
- [7] Bourret J., Badinand A., Serusclat F., *Ann. méd. lég.*, **1953**, 33, p. 144.
- [8] Favreau-Colombier J., *Marie Besnard - le procès du siècle*, Éd. Privat, **1999**.
- [9] Héricotte R., *Marie Besnard ou la justice empoisonnée*, Éd. J. A., **1980**.
- [10] Griffon H., Barbaud J., *Comptes-rendus des séances de l'Académie des Sciences*, **1951**, p. 1455.
- [11] Michon R., *Comptes-rendus de la Journée d'Information consacrée aux applications des radioéléments artificiels à l'analyse chimique, Saclay*, **1955**, note CEA n°134, p. 23.
- [12] Smith H., *Anal. Chem.*, **1959**, 31, p. 1361.
- [13] Forshufvud S., Smith H., Wassen A., *Nature*, **1961**, 4798, p. 103.
- [14] Macé J., *Empoisonnement de Napoléon*, vol. 1, pp. 720-724, dans le *Dictionnaire Napoléon* de J. Tulard, Fayard, **1999**.
- [15] Ben Weider C.M., *Napoléon est-il mort empoisonné ?*, Pygmalion, **1999**.
- [16] Meyer G., Chevallier P., Ricordel I., *Comptes-rendus des journées de spectrométrie X et  $\gamma$ , Saclay, octobre 2002* (à paraître).
- [17] Hindmarsh J.T., Corso P.F., *The death of Napoleon Bonaparte: a critical review of the cause*, Oxford University Press, **1998**.
- [18] Hindmarsh J.T., Corso P.F., Les cheveux de Napoléon, source externe ou ingestion d'arsenic, Lettre à la rédaction de *Annales de toxicologie analytique*, **2002**, vol. XIV, n° 2, p. 132.
- [19] Kintz P., Réponse de l'auteur, *Annales de toxicologie analytique*, **2002**, vol. XIV, n° 2, p. 133.



G. Meyer

### Georges Meyer

est ingénieur-chercheur à l'INSTN/UECCC du CEA/ Saclay\*.

### Pierre Chevallier

est maître de conférences au LURE d'Orsay\*\*.



P. Chevallier

### Ivan Ricordel

dirige le Laboratoire de toxicologie de la préfecture de police de Paris\*\*\*.



I. Ricordel

\* INSTN/UECCC CEA/Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette. Tél. : 01 69 08 63 13.

E-mail : georges.meyer@cea.fr

\*\* LURE Campus d'Orsay, Université Paris 11, 91405 Orsay Cedex.

E-mail : pierre.chevallier@lure.u-psud.fr

\*\*\* Laboratoire de toxicologie de la préfecture de police de Paris, 2 Place Mazas, 75012 Paris.

E-mail : prefpol-labotoxico.directeur@wanadoo.fr



# Un élève de Chevreul : Jacques Arnaudon (1829-1893)

Co-fondateur et premier président de notre Société

Josette Fournier

<b>Summary</b>	The beginning of the Chemical Society of Paris, in 1857, is recalled, with the part of searchers and assistants of Chevreul's laboratory. Four unpublished letters to Chevreul, from Arnaudon, the first President of the Society, who came from Turin to study dyeing chemistry at the Manufacture des Gobelins, are reported.
<b>Mots-clés</b>	<b>Société Chimique de Paris, Arnaudon, Chevreul, teinture, Manufacture des Gobelins.</b>
<b>Key-words</b>	<b>Chemical Society of Paris, Arnaudon, Chevreul, dyeing, Manufacture des Gobelins.</b>

## La fondation de la Société Chimique de Paris

### Les débuts de la Société

Saluant la disparition imminente du *Bulletin de la Société Chimique de France*, G. Bram et M. Golfier rappelaient les circonstances de sa fondation [1]. Dénommée Société Chimique de Paris, elle « a été créée en juin 1857, sur l'initiative de trois jeunes chimistes qui, bientôt rejoints par d'autres collègues, avaient pris l'habitude de se réunir chaque semaine pour discuter de leurs travaux personnels et des publications faites en France et à l'étranger dans une salle de café située cour du Commerce au Quartier latin », chaque mardi soir. Arnaudon était élève de Chevreul à la Manufacture impériale des Gobelins, Collinet, élève et préparateur de Dumas dans son laboratoire privé de la Sorbonne, et Ubaldini, élève de Balard et Berthelot au Collège de France. Autorisée par le Gouvernement, le 18 août 1857, la Société se dotait de statuts [2] dans lesquels Arnaudon figure comme président, Collinet comme secrétaire et Gensoul, élève de Sainte-Claire Deville et Riche au laboratoire de la Faculté des sciences, comme trésorier. En tout douze personnes, dont trois Italiens, un Russe, un Norvégien, un Portugais, un Colombien (Nouvelle-Grenade), un Lyonnais, un Mulhousien et trois Parisiens, ces jeunes gens, en majorité étrangers ou provinciaux, sont donc temporairement à Paris pour se former. Deux, Arnaudon, de Turin, et Mantas, de Lisbonne, sont au laboratoire de Chevreul aux Gobelins. Le président était élu pour un mois, le secrétaire et le trésorier pour six. Élu président le 30 juin 1857, Arnaudon fut réélu jusqu'au 29 décembre, date à laquelle il céda la place à Rosing. Le 27 janvier 1858, il fut élu vice-président, fonction créée par de nouveaux statuts adoptés le 10 février. Rosing et lui furent confirmés dans leurs fonctions jusqu'au 2 juin. Aimé Girard devint président, assisté de Jourdin, lequel céda la vice-présidence à Arnaudon dès le 30 juin. De nouveaux statuts furent adoptés le 28 juillet, d'après lesquels tout le bureau est élu pour six mois avec deux vice-présidents. Arnaudon cède la place à Friedel et Riche. Les séances sont animées : on relève « vive discussion », « proposition vivement repoussée », « la discussion entonnée dure jusqu'à 11 heures », « vive opposition ».

### Jacques Arnaudon

A. Gautier, qui retrace l'histoire de la Société lors de son 50<sup>e</sup> anniversaire [3], ne nous apprend rien sur Arnaudon. G. Bram et M. Golfier [1] écrivent : « On a assez peu de renseignements sur lui [...]. Il est mort à Vico le 3 octobre 1893 ». Dans la correspondance conservée et léguée par Chevreul au Muséum national d'histoire naturelle, restée jusqu'ici inexploitée, nous avons trouvé cette demande du représentant diplomatique de Sardaigne à Paris :

« Légation de Sardaigne, Paris le 22 septembre 1855  
Monsieur le directeur,  
Permettez-moi de venir recommander d'une manière toute spéciale à votre bienveillance Monsieur Jacques Arnaudon, l'un de nos fabricants les plus distingués sous tous les rapports, auquel s'intéresse particulièrement Monsieur le Comte de Cavour Président du Conseil, et qui est venu tout exprès à Paris pour étudier les modes et procédés de teinture employés dans les manufactures impériales.  
J'ose espérer que vous voudrez bien accueillir avec bonté Monsieur Jacques Arnaudon, et en ayant l'honneur de vous offrir d'avance tous mes remerciements pour tout ce que vous voudrez bien faire pour lui faciliter l'objet de ses recherches je saisis cette occasion de vous prier d'agréer l'assurance de ma considération très distinguée.

Le ministre de Sardaigne, De Villamarina ».

Le comte de Cavour avait reçu une éducation française ; grand propriétaire terrien, fondateur d'une société agraire, ministre de l'Agriculture, du Commerce et de la Marine en 1850, puis Président du Conseil en 1852 de l'État du Piémont, il est probable qu'il ait connu Chevreul par le *Bulletin de la Société Centrale d'Agriculture de France*.

### Un 18 brumaire chimique

Utilisant des sources externes à la Société, nos collègues [1] ont exposé comment, le 28 décembre 1858, véritable « 18 brumaire chimique » d'après le Dr Quesneville, sous la présidence d'Aimé Girard, les sociétaires fondateurs furent contraints à remettre la direction aux « jeunes maîtres » de la chimie française, « dont la situation scientifique fût déjà considérable » [4] et s'abritant derrière l'autorité de Dumas,

le même Quesneville apostrophe dans son *Moniteur* : « *Votre place, dirons-nous donc à M. Dumas, est à l'Institut, à côté de M. Chevreul, pour représenter le passé* » [5]. « *Les deux premiers présidents de la Société Chimique, Arnaudon (1857) et Rosing, de Christiana (1858), n'étaient que des préparateurs distingués* » [3]. On ne pouvait donc pas les laisser représenter la chimie française. Ce fut « *une révolution : de Société amicale, elle devint l'association la plus importante de France au point de vue chimique* » [4]. L'auteur de cet historique, remis à jour vers 1923 [6], passe même sous silence la présidence d'Arnaudon. Le compte rendu de cette séance du 28 décembre 1858, rédigé par les « vainqueurs », signale des divergences sur la conduite de la Société [7] : « *Les uns préfèrent la voir rester simple société de jeunes gens, comme elle a été créée ; les autres, au contraire, désirent lui voir prendre une grande extension en appelant à elle les premiers de la science* ». Il est probable que les choses n'étaient pas aussi claires et que l'argument, rédigé après coup, ne fut qu'un prétexte pour ceux qui, au contraire, constatant le succès de la nouvelle Société, voulaient en prendre le contrôle. La prétendue société restreinte avait réussi à rassembler plus de 60 membres en une année « *grâce au prosélytisme des membres actuels de la Société* » (3 novembre 1858). Le 10 mars 1858, la majorité de ses membres s'étaient prononcés pour « *l'extension la plus grande possible, en recevant des candidats jouissant d'une certaine réputation dans le monde scientifique* ». Néanmoins, le 28 décembre, le président Aimé Girard proposa « *de voter sur cette simple déclaration : La Société chimique de Paris déclare qu'elle désire modifier l'esprit dont elle est animée depuis sa fondation, en agrandissant le cercle de son activité scientifique* ». Arnaudon qui n'était pas dans le secret du « coup d'état » s'étonne, il « *fait remarquer que ce vote ne lui paraît pas utile, rien dans les statuts primitifs de la Société ne s'opposant à ce qu'elle choisisse son bureau parmi les sommités de la science* ». Girard passe outre, sa proposition est votée par 36 voix contre 16. « *Il annonce à la Société que M. Dumas, de l'Institut, a bien voulu dans ces circonstances accepter la présidence de la Société chimique* », lequel n'est pas membre de la Société, et est élu par acclamation, contrairement aux statuts qui fixent que l'élection doit être faite au scrutin secret. Quelle que soit l'impression désagréable que l'on éprouve à cet examen, il est probable que sans cette prise de pouvoir par des chimistes français parmi les plus ambitieux et les plus capables, la Société, aux mains de jeunes chercheurs qui n'étaient en France que pour un temps limité, n'aurait pas connu le destin qui a été le sien.

### Une forte présence des élèves et collaborateurs de Chevreul

Le 24 juin 1859, la Société adopte de nouveaux statuts. Son but initial était « *de se tenir au courant des progrès qui ont lieu dans toutes les branches de la chimie* », ses réunions hebdomadaires ; « *Dans le cas où l'un des membres serait forcé de quitter Paris, il ferait toujours partie de la Société ; il en deviendrait correspondant, et dès lors ne serait plus soumis à la contribution mensuelle* ». Désormais, « *son objet est de concourir à l'avancement et à la propagation des études de chimie générale et appliquée, par ses travaux, par la publication des mémoires de ses membres, par des prix et des encouragements* » ; les séances sont bimensuelles depuis le 10 novembre 1858 ; les membres sont astreints à un droit d'entrée et à une cotisation annuelle de 36 fr pour les résidents diminuée de jetons de présence (1 fr), et de 20 fr

pour les membres non résidents. Le 1<sup>er</sup> janvier 1860, la Société compte 124 membres résidents, 31 non résidents dont 15 ont une adresse à l'étranger. Au 31 décembre, il y a 129 résidents, 66 non résidents dont 31 domiciliés à l'étranger. Plusieurs sont élèves ou collaborateurs de Chevreul, aux Gobelins, au Muséum ou à la Société Impériale et Centrale d'Agriculture [8] : Cahours, Cloëz, trésorier de la Société de 1858 à 1880, Decaux, successeur de Chevreul aux Gobelins, Meyer, Guignet et Barral (membres de la Société Centrale d'Agriculture, le second succèdera à Payen comme secrétaire perpétuel), Arnaudon est membre non résident domicilié à Turin, ainsi que Crace-Calvert à Manchester, Carlo Koechlin à Mulhouse...

Ce sont des sociétaires très actifs : le 20 novembre 1858, Arnaudon « *annonce que ses recherches sur la coloration de certains bois l'ont conduit à examiner si quelques corps sur lesquels la lumière réagit exigent, pour que cette action ait lieu, la présence de l'oxygène* ». En 1837, Chevreul présentait à l'Académie des sciences un mémoire de 76 p. sur les effets de l'oxygène et de la lumière sur les étoffes teintes ; en 1854, il avait déjà suggéré à Niepce de Saint-Victor, une étude analogue des effets de l'exposition à l'air et à la lumière, de différentes durées, sur les bitumes de Judée utilisés en photographie, « *expériences comparatives que j'ai faites, écrit l'auteur, aux Gobelins, sous les yeux de M. Chevreul* ». Il ajoute « *j'ai été grandement aidé par M. Decaux, préparateur de M. Chevreul aux Gobelins* » [9]. Exposant les premiers résultats de ces travaux dans le *Bulletin de la Société d'Encouragement à l'Industrie Nationale*, en 1854, Chevreul confirmait : « *Voici une double expérience parfaitement contrôlée qui a été faite aux Gobelins, sous mes yeux, par M. Niepce de Saint-Victor* » [10]. Le 14 décembre, Decaux décrit « *un appareil gazométrique [...] et dont il fait depuis plusieurs années un usage avantageux au laboratoire des Gobelins* », et, dans la même séance « *une étuve d'une nouvelle disposition qui suivant lui, donne des résultats avantageux* ». Le 28 décembre, Seeligmann présente, « *au nom de M. Decaux, une burette basée sur le même principe que celle de M. Hervé-Mangon, c'est-à-dire l'emploi d'une ventouse en caoutchouc* » (Hervé-Mangon est membre de la Société Centrale d'Agriculture), et Arnaudon « *communiqua une lettre [...] donnant la description d'un appareil pour l'analyse de l'air* ». Le 11 janvier 1859, Cloëz envoie deux notes, « *sur l'emploi des appareils à lavage continu* » et « *sur la non-existence de l'iode libre dans l'air atmosphérique* », et Arnaudon « *expose quelques faits concernant l'action de l'acide sulfurique sur l'acide picrique* ». Le 29 janvier, Guignet « *décrit la préparation et les propriétés d'un nouvel oxyde de chrome hydraté* », qui peut remplacer, à meilleur prix, le vert émeraude dans le commerce des couleurs fines. Le 8 février, Cloëz « *indique une disposition particulière qu'il emploie pour opérer les analyses organiques* ». « *Dans la dernière séance extraordinaire précédant les vacances, M. Barral a fait une leçon sur l'influence exercée par l'atmosphère sur la végétation* ».

D'ailleurs, parmi les sujets traités en séance, beaucoup reflètent les préoccupations du directeur des teintures des Gobelins, couleurs, colorants, teinture et apprêt des tissus, procédés photographiques ou d'analyse. Ainsi, lors de la séance de rentrée (3 novembre 1858), Seeligmann, chimiste de Lyon, « *met sous les yeux de la Société un atlas publié en Allemagne par M. le professeur Runge, sous le titre : Supplément à la Chimie des couleurs [...] ; la formation de la tache colorée s'effectue sur le papier en donnant des dessins fort intéressants pour l'industrie des ombrés en impression sur*

tissus ». Girard présente « des étoffes incombustibles [...]. Des expériences tentées sur leur incombustibilité, séance tenante, réussissent parfaitement ». Il fait aussi « connaître un nouveau procédé d'impression photographique ». Le 20 novembre, Seeligmann résume un travail ayant « pour but l'application à la teinture de l'érythrose ».

Le 25 février 1859, c'est Decaux qui fait, au nom d'Arnaudon, « une communication sur l'oxyde de chrome hydraté. A l'acide borique employé par M. Guignet pour décomposer le bichromate de potasse, M. Arnaudon propose de substituer le phosphate d'ammoniaque ».

Notons, en ce début d'année 1859, l'active présence des Russes Békétoff et Harnitzky (de Kharkoff) qui utilisent le système C=12, H=1, O=16. Est-ce pour cela que Dumas, qui préside effectivement en mars pour la première fois, « en déposant sur le bureau quelques exemplaires de son Mémoire sur les équivalents des corps simples, appelle l'attention de la Société sur quelques points qui ont trait à la question des équivalents » ? A cette époque, les comptes rendus cessent de témoigner de débats et discussions pour ne plus donner que les textes des communications. Celles sur les colorants se font rares ; Guignet, qui succèdera à Decaux comme directeur des teintures aux manufactures des Gobelins et de Beauvais, intervient le 23 décembre 1859 avec des « Recherches sur la fuchsine » et le 24 février 1860 avec de « Simples observations sur les propriétés tinctoriales de l'albumine » ; le 27 juillet 1860, Willm présente une « Note sur les dérivés colorés de l'aniline ».

Le 24 mai 1861, Guignet « communique les résultats de ses expériences relatives à l'emploi de la nitrobenzine et de l'aniline comme dissolvants du coton-poudre destiné à la préparation du collodion photographique ».

Arnaudon « adresse une note sur la graine d'ovala ou d'opohala du Gabon et sur l'huile qu'en extrait de cette graine » dont seules les conclusions sont rapportées en une dizaine de lignes dans le *Bulletin* le 27 janvier 1860 : l'huile « est susceptible d'être employée pour les usages domestiques, ainsi que dans l'industrie mécanique et savonnaire ». Les tourteaux « peuvent donner par infusion une matière applicable à la teinture, surtout pour les noirs ; enfin la matière épuisée par ce traitement peut servir d'engrais ». La reproduction des noirs est un souci récurrent de Chevreul, du fait du contraste simultanée des couleurs, ils sont toujours mélangés par la teinte complémentaire de la couleur voisine [11]. Arnaudon a trouvé dans l'amande d'ovala un principe « susceptible de se colorer en rouge cramoisi vif par l'influence simultanée d'une matière sucrée, de l'acide sulfurique et de l'oxygène ». Le 26 octobre 1860, il communique à la Société une *Analyse d'un échantillon de bronze antique, appartenant à une statue trouvée à Brescia*, faite sur un échantillon de 2 g, et une *Note sur l'oxalate d'ammoniaque et sur son application à l'analyse et à la teinture*. Il est désormais membre non résident, domicilié au laboratoire de l'Université, à Turin, jusqu'en 1866, où son adresse est à l'Institut technique de cette ville. Absent des registres de la Société de 1867 à 1873, il réparaît de 1874 à 1885, domicilié 5 rue Consolator à Turin. Le 2 novembre 1877, la Société reçoit son *Rapport sur l'industrie et le commerce des cuirs, des peaux et des matières tannantes, représentés à l'Exposition universelle de Vienne* (en italien). Une note déposée par Willm, relative à la tannerie et à la teinture, semble avoir été sa dernière contribution. Arnaudon y rappelle un travail effectué aux Gobelins en 1857 et décrit des bois tannants qui « se trouvent actuellement au musée de Turin » [12].

## Les lettres d'Arnaudon à Chevreul

Chevreul avait appris l'italien à l'École centrale d'Angers. Néanmoins, Arnaudon lui écrit en français. Quatre lettres nous sont parvenues que nous restituons avec leur orthographe.

### Détresse et vénération

La première lettre est datée de Turin, le 10 août 1860.

*« Mon cher et illustre maître, permettez que je vous présente monsieur le Ch<sup>vr</sup> prof<sup>r</sup> Dotto Scribani de l'université de palerme mon ancien ami, qui pour la première fois se rend à paris et désire approcher entre tous les chimistes qui se trouve dans cette métropole intellectuelle le venerable savant que tout le monde honore depuis un demi siècle.*

*Monsieur Dotto Scribani a été chargé dernièrement par M. le Ministre d'agriculture et Commerce de donner un cours de leçons sur l'industrie des cuirs et peaux à l'institut technique de Palerme sur un programme que j'ai moi même rédigé sur cette industrie laquelle avec la teinture comme vous savez m'occupe depuis longtemps.*

*M. le prof Scribani vous dira mieux que je ne pourrai l'écrire les causes qui m'ont empecher jusqu'ici de poursuivre mes recherches sur différents principes immédiats que j'avais découvert ainsi que des études commencées sur la production de plusieurs matières colorantes.*

*Je me propose de vous écrire un de ces jours une longue lettre sur l'organisation de mon enseignement à l'institut technique de Turin et sur différentes questions ayant trait à l'enseignement professionnel sur les quelles j'ai déjà attiré l'attention du public italien mais combien d'obstacles à surmonter, que de barrières à franchir, que nous sommes encore en arrière ici, que de peines pour se faire écouter au milieu de ce peuple qui n'a pas au moins pour le plus grand nombre les connaissances et volonté suffisante pour comprendre certaines questions.*

*l'audacieuse médiocrité, le charlatanisme ont beau jeu. quels tourments pour un homme honnête qui se respecte, pour le savant modeste qui ne veut relever que de son mérite qui veut être fils de ces oeuvres, et rien de plus.*

*M. Scribani pourra vous en dire sur mon compte, et vous entretenir des luttes que meme actuellement j'ai a soutenir.*

*je désire depuis longtemps quelques mots de vous j'ambitionne l'honneur d'écrire quelque chose sur vos travaux mais il me manque le matériel pour compléter. Je vais vous envoyer une courte notice que vous pourriez si vous le jugerez à propos présenter en mon nom à l'académie.*

*Ne m'oubliez pas pensez que vous avez de ce côté des alpes un de vos disciples le plus dévoué.*

Jacques Arnaudon ».

### Une médiation entre Chevreul et Berthelot

La seconde est datée du 16 novembre 1860.

*« Mon cher maître*

*J'ai reçu il y a quelques jours votre affectueuse par M. Fua et je la conserverai comme une des choses les plus précieuses, M. Fua que j'ai eu le plaisir de voir à plusieurs reprises durant son séjour à Turin vous répètera lui-même de vive voix mes sentiments à votre égard ainsi que maints détails sur ma*

fonction de chimiste à l'arsenal il vous parlera encore de mes vues pour l'avenir je m'estime très heureux de savoir que vous avez la même opinion que moi sur la place que j'occupe actuellement ; les souhaits que vous faites pour ma position future me donneront plus de foi en mes propres forces, du courage et de la volonté à persévérer dans le but que je me suis proposé. que Dieu veuille que je puisse un jour me rendre digne de l'estime que vous avez pour moi et faire honneur au moins, si je ne peux soutenir l'éclat de mon vénéré maître en me faisant le propagateur de ses principes et s'il m'est possible être en quelque partie son continuateur. Je m'efforce de suivre l'exemple que vous ne cessez de me donner au travail, & quoique je me trouve plus que jamais engobré de travail officiel et officieux (analyse de (mot illisible) poudres salpêtres minerais etc.) je m'applique cependant à étudier les différentes méthodes de préparation du fulminate de mercure : je fais marcher comparativement nos procédés avec ceux de la capsulerie de montreuil que j'ai visitée dernièrement. J'ai entrepris aussi quelques études sur les produits accessoires de cette préparation je crois avoir entrevu l'acide tartrique dans le mélange complexe d'acides glicolique formique acétique oxalique et Je ne vous ai pas remis la note sur la statue de la victoire du musée de Brescia laquelle m'a donné à l'analyse

9,44 étain

80,70 cuivre

7,68 plomb

1,91 zinc avec trace de fer

99,74

J'attends quelques renseignements locaux qui me manquent et je vous l'enverrai aussitôt de même que le petit travail que j'ai fait sur le nitrate de soude et peut être je me déciderai de vous y unir le peu que j'ai fait sur un nouvel alcaloïde de l'écorce de (deux mots illisibles) de la Nlle Hollande. Je regrette de ne pouvoir donner l'analyse élémentaire mais il me faudrait attendre encore longtemps et voilà deux années que mon travail est fait. Le conseil de la ville de Turin a fait bon accueil au projet du musée industriel que j'ai présenté avant mon voyage de paris on m'a dit que l'on me donnerait un témoignage public de reconnaissance pour tous les efforts que je fais afin d'accroître le lustre de ma ville natale quant à moi je ne l'ai pas entrepris dans ce but de sorte que si le témoignage n'arrive pas il n'y aura pas de déception. ma récompense est plus intime j'ai cru accomplir une oeuvre utile voilà tout.

J'avais écrit la lettre à M. Regnault que vous savez pour obtenir des échantillons des matières premières des porcelaines de Sèvres je me recommande d'avance à vous pour que vous le disposiez en ma faveur ainsi que M. Salvétat. Depuis mes adieux j'ai vu M. Berthelot avec lequel je me suis entretenu il m'a paru un peu accablé par les appréciations critiques que vous avez données sur son ouvrage dans le journal des savants la vérité avant tout mais moi qui comme vous l'aime et l'estime beaucoup je voudrai bien que vous trouviez moyen de le relever un peu dans la suite, je serai bien fâché je vous l'avoue si une intelligence d'élite née pour vous comprendre et vous continuer venait à s'abaisser en s'éloignant de vous. oh non je l'ai dit déjà plusieurs fois à mes collègues, Berthelot est l'aîné de vos fils scientifique le premier de vos disciples et je me plais à espérer que le fait ne viendra pas à démentir mes plus chères pensées les liens de cette belle famille scientifique vont se raffermir davantage plutôt que se dénouer. En attendant je désirerai beaucoup de posséder le 1<sup>er</sup> article paru car il renferme de cruelles vérités et des enseignements précieux pour nous tous.

avez-vous déjà commencé la publication de vos leçons sur les engrais et sur l'hygiène si vous pouviez m'envoyer les feuilles ou épreuves à fur à mesure de leur impression j'en ferai une traduction immédiate pour notre journal d'agriculture. j'espère que vous me donnerez un exemplaire de votre 11<sup>e</sup> mémoire de la teinture ainsi que ce que vous avez publié dans le compte rendu de la société centrale d'agriculture de France sur l'analyse du suint. Mr le GI Menuher est en ce moment à Gaete occupé de diriger les travaux de siège je lui ai envoyé votre lettre avec la mienne. M. prati vous remercie de votre bon souvenir et il regrette que l'ouvrage qu'il vous avait envoyé ne vous soit point parvenu.

Tout est en grande activité dans nos arsenaux on s'apprête pour ce printemps il y aura à cette époque peut-être 100 000 hommes sous les armes. une marine qui viendra immédiatement après celle de la France ; puis la paix, les sciences

Vtt Dévoué élève J. Arnaudon hyer a été inauguré le cours de littérature française par M. Denis ancien élève de l'école normale et profr à Strasbourg le ministre Mauriani et toutes les notabilités y assistaient j'ai fait sa connaissance personnelle.

Mon adresse est chimiste à l'arsenal M de Turin rue Bellepia 20 ».

On y relève la visite de M. Fua. Membre de la Société Nationale d'Agriculture, dont Chevreul est le président ou vice-président depuis 1849, il est spécialiste et propagateur de la culture du maïs. Arnaudon parle notamment de son analyse de la matière de la statue de Brescia.

Berthelot traverse une période difficile dans ses relations avec Pasteur et Chevreul. Il est l'un des quatre vice-présidents nommé le 19 août 1859, avec Pasteur, Cahours et Paul Thénard. Le 28 mai 1860, il a présenté à l'Académie une note *Sur la fermentation glucosique du sucre de canne* dans laquelle, confondant l'inversion du sucre et la fermentation, il croit démontrer une opposition entre les énoncés de Pasteur et les faits observés. Le 8 juin, à la Société Chimique de Paris, Pasteur répond par une *Note sur la fermentation alcoolique* : M. Berthelot appelle « ferment des substances solubles dans l'eau capables d'invertir le sucre. Or, tout le monde sait qu'il y a une foule de substances jouissant de cette propriété, par exemple tous les acides. [...] je n'appelle ferment que ce qui fait fermenter le sucre, c'est-à-dire ce qui produit de l'alcool, de l'acide carbonique, etc. Quant à l'inversion, je ne m'en suis pas occupé ».

La même année, Berthelot publie sa *Chimie organique fondée sur la synthèse* [13]. Il a soutenu en 1854 une thèse sur la synthèse de glycérides qui venait confirmer les vues de Chevreul sur la nature de la glycérine [14]. Chevreul est tout naturellement chargé de la recension de son livre dans le *Journal des Savants* [15], et à l'Académie des sciences [16], où Berthelot n'entrera qu'après trois échecs, le 3 mars 1873, dans la section de physique. Dans le premier, il fait paraître deux articles en octobre et novembre, annonçant une suite. Elle ne sera jamais publiée. S'est-il rendu aux conseils de mansuétude de son ancien collaborateur turinois ? On note la promptitude et la minutie avec laquelle il a fait ces comptes rendus, d'autres recensions de Chevreul sont parues souvent plusieurs années après l'édition du livre examiné et ne sont que prétexte à développer ses idées sur un tout autre sujet. Dans le *Journal des Savants*, il qualifie l'exercice de « mission difficile à remplir [...] Or, après avoir applaudi un des premiers aux recherches dont M. Berthelot a enrichi bien réellement la science, il nous est pénible, lorsqu'il présente l'ensemble au public, de mettre des limites à la louange ».

Chevreul conteste la hiérarchie imposée dans la chimie par Berthelot entre l'analyse et la synthèse, il conteste avec de nombreuses citations et des exemples conservés dans sa mémoire l'histoire de la marche de la chimie tracée par Berthelot, et la présentation caricaturale des idées de ses prédécesseurs (force vitale) ; il rétablit des distinctions claires de vocabulaire entre analyse immédiate, élémentaire, chimique, mécanique ; il précise sa définition de l'espèce chimique, il défend l'unité de la chimie, minérale ou organique : « *Aucun caractère ne distingue les espèces composées inorganiques des espèces composées organiques* ». Sur les recherches de Pasteur, on ne trouve rien sinon dans l'introduction : elles « *portent, au contraire, le cachet de l'analyse la plus fine comme de la plus précise* ». Berthelot en fut très contrarié, cette lettre de lui à Renan du 31 octobre 1860 est connue [17] : « *Mon livre commence à entrer dans la discussion et il paraît que c'est M. Chevreul qui le critiquera le premier. Il va publier dans le Journal des savants des articles pour en attaquer la tendance et l'idée générale. [...] il était difficile que la contradiction n'éclatât pas. Comme elle roule sur les idées, elle ne paraît altérer jusqu'ici en rien ni son amitié pour moi, ni son estime pour mes expériences. Mais elle paraît indisposer un peu M. Biot contre mes idées. [...] Vous voyez que voilà de quoi, sinon me tourmenter, du moins me préoccuper* ». Sa rancune s'exprimera sans élégance après la mort de son contradicteur [18] : on voit « *combien le point de vue de Chevreul, confiné dans la recherche des espèces extraites des êtres organisés, était étroit, et même opposé à la marche que la chimie allait inaugurer au cours du XIX<sup>e</sup> siècle. [...] il vécut toute sa vie cantonné dans ses propres travaux et dans les idées des hommes de son temps, sans s'être assimilé aucune idée nouvelle* ». Néanmoins, Berthelot était contraint de reconnaître : « *Ce qui donnait à son attitude une grande dignité, ce qui inspirait le respect aux gens qui l'approchaient, c'était son respect profond pour la vérité et l'absence absolue de toute infatuation pour ses propres travaux* ».

Le Piémont-Sardaigne, rival de l'Autriche, avait adhéré en janvier 1856 à l'alliance franco-anglaise, dans la guerre de Crimée contre la Russie. En échange, il obtint le 26 janvier 1859 la signature d'un traité franco-sarde d'alliance militaire contre l'Autriche dans le but de former un royaume de haute Italie. La guerre éclata le 27 avril : malgré le traité de Zurich (11 novembre), Cavour, revenu au pouvoir, annexa l'Italie centrale avec l'accord de Napoléon III, contre la cession à la France, après consultation des populations, de Nice et de la Savoie (24 mars 1860). En octobre 1860, il annexe le royaume de Naples ; Victor-Emmanuel fait son entrée dans cette ville avec Garibaldi le 7 novembre, tandis que le roi de Naples, François II, est assiégé à Gaète, il ne capitulera que le 13 février 1861.

### L'école de Chevreul

Dans sa notice historique sur Chevreul, remplie d'assertions injustes mais tenaces, Berthelot écrit « *il a disparu, sans former ni école, ni élèves nombreux. Il n'en témoigna jamais le goût ou le désir, et il a passé sans avoir fécondé la jeunesse par cette ardeur communicative qui la pousse en avant vers de nouveaux horizons* ». Nombre de lettres conservées d'anciens élèves, industriels ou (et) étrangers, démontrent la fausseté de cette opinion.

« Turin le 8 janvier 1867  
Mon cher et illustre maître

*Monsieur Dupré que j'ai l'honneur de vous présenter natif de Pesaro conseillé par moi vient à Paris pour se perfectionner dans ses études et désire spécialement se donner à la chimie et en second lieu à la physique j'ai pensé qu'aucun autre laboratoire que celui que vous dirigez ne pouvait convenir à son but il vient donc se présenter pour être admis à l'école pratique de chimie instituée dernièrement au muséum d'Histoire naturelle de Paris. sous votre direction ainsi que celle de votre honorable collègue et ami M. Frémy.*

*En conseillant à M. Dupré de choisir votre laboratoire je n'ai pas seulement obéi à l'opinion publique laquelle indique déjà cette institution comme une des meilleures en Europe, mais j'ai suivi en même temps la voix intérieure. Ce sentiment de sympathie et de vénération que je n'ai cessé d'avoir pour mon illustre maître sentiment que je cherche toujours d'inspirer dans mon auditoire et à tous mes élèves faisant connaître dans toute occasion vos immortels travaux.*

*Je désirerais de posséder les derniers mémoires que vous avez publiés c'est à dire ce qui a paru depuis mon départ de Paris 1859-60 j'en aurai fait l'objet de quelques articles dans nos journaux scientifiques littéraires.*

*J'attends aussi de votre bonté une réponse à ma lettre où je vous parlais d'un musée merciologique industriel que j'ai fondé à Turin. je voudrais l'imprimer avec quelques mots d'encouragement venant de vous même.*

*cette publication serait très avantageuse pour moi et à mon enseignement.*

*Monsieur Prati mon beau frère m'a parlé beaucoup de vous à son retour et vous conserve une espèce de vénération comme doit l'inspirer à tout le monde l'exemple d'un homme qui est sur la brèche depuis soixante ans qui travaille quand tous les autres depuis longtemps se reposent.*

*Que je serai heureux de vous revoir cette été si j'avais le bonheur d'aller à l'exposition ; à ce propos je voudrais vous prier d'appuyer une demande que je vais faire à M. Frémy pour avoir le titre d'associé (étranger) ou associé du jury de la classe dont il est président laquelle comprend les matières tannantes et tinctoriales.*

*En attendant quelques mots de vous j'ai le plaisir de me dire avec respect et affection votre tout dévoué élève*

*J. Jacques Arnaudon  
prof<sup>r</sup> à l'institut MI. technique de Turin ».*

Des liens de travail existent entre les élèves de Chevreul. Ainsi dans son 6<sup>e</sup> mémoire, Niepce de Saint-Victor écrit [19] : « *M. Arnaudon, chimiste de Turin, a répété quelques-unes de mes expériences dans les différents gaz [...]* ».

### Un vulgarisateur

« Turin le 17 septembre 1873

Mon cher et illustre maître

*Je profite du voyage de MM. Ceresole en France et Angleterre pour me rappeler à votre bon souvenir. Quoique loin de vous, je suis toujours avec vive admiration vos travaux, vos discours, vos actions et plus d'une fois j'ai eu déjà occasion de les faire connaître à mes concitoyens, à mes élèves et vous citer comme exemple à suivre dans la double vie scientifique et morale que vous avez si glorieusement et si noblement parcourue.*

*Vous êtes une de ces rares individualités que la distance des lieux et des temps ne fait que grandir dans l'estime des hommes.*

*Quant à moi j'ai fait mon devoir aussi, mais hélas la santé, le milieu ne m'ont pas été guère favorables. et partant je n'ai*

pas pu produire tout ce que j'aurai pu dans d'autres circonstances.

Après avoir introduit un enseignement nouveau la mercurologie et fondé un musée mercurologique industriel que j'ai donné à la ville de Turin j'ai étudié et décrit un grand nombre de matières qui formeront un traité sur les connaissances commerciales.

J'ai publié un long article sur la classification et contraste des couleurs inséré dans l'Encyclopédie chimique italienne ou j'ai cherché surtout de vulgariser et faire connaître chez nous vos grands travaux en regard avec ceux de vos contemporains.

Veillez l'accepter comme un témoignage d'ancien élève et le faire agréer aussi par l'académie des sciences.

Vous trouverez peut être les illustrations imparfaitement réussies et cependant elles m'ont donné bien de la peine pour arriver au point que je vous les présente ces 10 planches sont en chromolitographie et tirées à quelques milles d'exemplaires. Si j'étais encouragé par quelqu'une de vos paroles j'en ferais une nouvelle édition corrigée et même j'oserais entreprendre la traduction ou l'extrait de partie de vos ouvrages.

Actuellement je suis en train d'écrire un livre sur les matières tannantes et sur le tannage, que je ferai peut être suivre plus tard par un autre sur les matières tinctoriales ou j'aurais plus d'une occasion nouvelle pour faire apprécier à mes conationaux ce que la science et l'industrie vous doivent.

J'ai écrit dans un autre ordre d'idée un volume sur les expositions industrielles et de quelques causes du progrès de l'industrie que je vous envoie avec un index traduit en français sur les matières qui y sont traitées.

Un autre volume traite de l'instruction spectacles et fêtes et de quelques unes des causes de décadence des nations livre que j'ai écrit avec une profonde conviction et pendant la guerre qui a désolé votre malheureux pays que j'aime comme ma seconde patrie.

Enfin j'ai continué à publier des écrits sur l'enseignement technique et sur les octrois, ainsi que sur d'autres questions d'intérêt général.

C'est possible que l'année prochaine je sois chargé d'un cours de teinture et chromatique à l'institut Royal industriel de Turin dans ce cas j'entreprendrai peut être un voyage à Paris et j'aurai alors le plaisir de vous voir et vous présenter quelques nouveaux travaux, lointains reflets de l'enseignement que j'ai reçu dans les cinq années que j'ai passées dans votre laboratoire et de vos écrits que je consulte toujours avec profit.

Dans l'attente d'une lettre encourageante je me dis avec plaisir

voit tt dévoué élève  
jacques Arnaudon

professeur à l'institut industriel de Turin

Mon beau frère le poète Prati me charge de vous saluer bien cordialement et vous souhaite de longues années dans l'intérêt de la science et de l'humanité. il est en ce moment à Turin arrivé de Rome ».

Ces quelques documents témoignent de la confiance que les élèves de Chevreul lui vouaient et de la fidélité réciproque qu'il avait su inspirer. Au cours du XIX<sup>e</sup> siècle, on assiste à un repli des savants qui, distinguant la « science pure » de la chimie appliquée, n'ont que dédain pour la seconde. A l'époque de la fondation de notre Société, entre le 15 novembre 1857 et le 20 décembre 1858, Chevreul présente à l'Académie des sciences une série de quatre mémoires de Niepce de Saint-Victor *Sur une nouvelle action de la lumière dans les actions moléculaires*. Leur analyse [20] nous a

convaincus qu'au cours de ces travaux les deux hommes avaient observé le rayonnement de l'uranium, que Chevreul qualifie de « découverte capitale », une génération avant Becquerel. Chevreul fut l'un des rares représentants du haut enseignement à s'intéresser aux recherches expérimentales de « savants d'invention » qui se placent « au point de vue de l'application », teinturiers, peintres, photographes, agriculteurs, envers lesquels il ne nourrissait aucun dédain, et au nombre desquels figure le premier président-fondateur de notre Société. Bien qu'il ait accompagné des sociétaires parmi les plus actifs, Chevreul ne fut jamais membre de la Société, de même qu'il a accompagné des photographes parmi les plus en vue à la jeune Société de Photographie sans en faire partie.

L'auteur remercie Michelle Lenoir, conservateur de la Bibliothèque centrale du Muséum, ainsi que Pascale Heurtel, archiviste du Muséum, et Anne Caverro, son assistante, pour leur excellent accueil.

## Références

- [1] Bram G., Golfier M., *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1997**, 134, p. 841.
- [2] Paquot C., *Mémorial de la Société Chimique de France 1857-1949*, documents réunis sous forme de tables additionnelles au *Bulletin*, sd vers 1950.
- [3] Gautier A., *Cinquantenaire de la Société Chimique de France*, Gauthier-Villars, **1908**, p. 73.
- [4] *Court résumé de l'histoire de la Société Chimique de Paris*, brochure de 8 p., sd vers 1900.
- [5] Quesneville, *Moniteur scientifique de Quesneville*, **1859**, 2, p. 107.
- [6] *Court résumé de l'histoire de la Société Chimique de Paris*, brochure de 10 p., sd vers 1923.
- [7] *Bulletin des séances de 1858-1860*, A. Wurtz, F. Le Blanc éd., **1860**, p. 6.
- [8] Fournier J., Michel-Eugène Chevreul (1786-1889) à la Société Nationale d'Agriculture, *L'Act. Chim.*, nov. **2000**, p. 38.
- [9] Niepce de Saint-Victor, Mémoire sur la gravure héliographique obtenue directement dans la chambre noire et sur quelques expériences scientifiques, *C.R.A.S.*, **1855**, 41, p. 549, séance du 8 octobre 1855.
- [10] Chevreul M.E., Considérations sur la photographie au point de vue abstrait, *Bulletin de la Société d'encouragement à l'industrie nationale*, **1854**, 53<sup>e</sup> année, tome 1<sup>er</sup>, p. 511.
- [11] Chevreul M.E., Communication relative à la Note de M. Niepce de Saint-Victor sur les noirs produits en photographie, *C.R.A.S.*, **1865**, LXI, p. 701.
- [12] Arnaudon J., Des bois tannants et en particulier du Quebracho aspidosperma ; application du même bois à la teinture, *Bulletin de la Société Chimique de Paris*, **1877**, 28, p. 524.
- [13] Berthelot M., *Chimie organique fondée sur la synthèse*, Mallet-Bachelier, Paris **1860**, réimpression Culture et civilisation, Bruxelles, **1966**, 2 vol.
- [14] Jacques J., *Berthelot (1827-1907), autopsie d'un mythe*, Belin, **1987** ; Langlois-Berthelot D., *Marcelin Berthelot, un savant engagé*, J.-C. Lattès, **2000** ; Dhombres, Javault éd., *Actes du colloque Marcelin Berthelot, une vie, une époque, un mythe*, Cahiers d'histoire et de philosophie des sciences, **1992**, 41.
- [15] Chevreul M.E., Chimie organique fondée sur la synthèse, par Marcellin Berthelot [...]. Recherches de M. Pasteur sur la physique, la chimie et les productions végétales des matières en fermentation, *Journal des Savants*, **1860**, p. 625 et p. 677.
- [16] Chevreul M.E., *C.R.A.S.*, **1860**, 51, p. 342.
- [17] Renan E., Berthelot M., *Correspondance 1847-1892*, Calmann-Lévy, Paris, **1929**.
- [18] Berthelot M., Notice historique sur la vie et les travaux de M. Chevreul, *Mémoires de l'Académie des sciences*, **1904**, t. 47, p. 388 ; Jacques J., Chevreul et Berthelot, *Michel-Eugène Chevreul, Un savant, des couleurs I*, MNHN et EREC éd., **1997**, p. 61.
- [19] Niepce de Saint-Victor, Sur une nouvelle action de la lumière, présenté par M. Chevreul, *C.R.A.S.*, **1867**, LXV, p. 505.
- [20] Fournier P., Fournier J., Hasard ou mémoire dans la découverte de la radioactivité ?, *Rev. Hist. Sci.*, **1999**, 52/1, p. 51 ; Fournier P., Fournier J., A. Niepce de Saint-Victor (1805-1870), M.E. Chevreul (1786-1889) et la découverte de la radioactivité, *New J. Chem.*, **1990**, 14, p. 785.



**Josette Fournier\***

est membre du club Histoire de la chimie et du Comité de rédaction de *L'Actualité Chimique*.

\* 21 parc Germalain, 49080 Bouchemaine.

## Révision de la politique européenne des substances chimiques

### L'étude « Mercer »

#### • Présentation des résultats

Les résultats de l'étude française d'impact sur l'économie française, confiée par l'Union des Industries Chimiques au cabinet Mercer Management Consulting et réalisée avec le concours du ministère de l'Écologie et du développement durable, du ministère délégué à l'Industrie et de plusieurs Fédérations industrielles (UIMM, FIM, FIEEC, UIT, FFA) ont été présentés le 24 avril lors d'une conférence de presse à Paris et le 28 avril lors d'une conférence de presse à Bruxelles.

Ils ont également été présentés le 28 avril à Bruxelles, au cours d'un dîner-débat qui s'est déroulé au Parlement européen, sous le parrainage de Mesdames Fourtou et Grossetête. Des parlementaires européens français et des représentants de la Commission européenne, notamment Mme Day, directrice générale de la DG Environnement et M. Mingasson, directeur général de la DG Entreprise ont ainsi pu donner leur avis et réagir, à la fois par rapport à ces résultats et par rapport aux témoignages de représentants d'entreprises et de fédérations. Il faut souligner que deux représentants de PME, toutes deux leaders dans leurs domaines, sont venus spécialement témoigner des conséquences très graves qu'aurait le futur système REACH sur leur activité, illustrant ainsi de manière concrète les conclusions de l'étude Mercer.

#### • Publication des résultats

A l'occasion de la présentation des résultats, deux communiqués de presse ont été diffusés par l'UIC et Mercer (leurs textes sont disponibles sur le site de l'UIC, <http://www.uic.fr>). Mercer a également publié un document de synthèse, intitulé « *Quel pourrait être l'impact de la future réglementation européenne dans le domaine des substances chimiques ?* ». L'étude elle-même sera publiée sur le site, ouvert au public, en français et en anglais, afin que chacun puisse avoir accès à la méthodologie et à l'ensemble des résultats.

### Propositions de la Commission

#### • Mise en consultation sur Internet

Le Collège des commissaires a, lors de sa réunion du 7 mai, débattu des propositions présentées par M. Liikanen et Mme Wallström. A l'issue de ce débat, il

a été décidé que les 1 200 pages (en anglais uniquement) constituant l'ensemble de la stratégie proposée par les DG Entreprise et Environnement seraient soumises, pendant une période de 8 semaines, à consultation sur Internet, à l'adresse :

<http://europa.eu.int/comm/entreprise/chemicals/chempol/whitepaper/reach.htm>  
L'objectif de cette consultation est de permettre aux parties concernées de donner leur avis.

A l'issue de la période de 8 semaines, la Commission étudiera tous les commentaires reçus et adoptera ses propositions qui seront ensuite soumises au Conseil et au Parlement, conformément à la procédure de co-décision. Compte tenu des délais de consultation et d'analyse des commentaires, il semble peu probable que ces propositions puissent être adoptées avant le 4<sup>e</sup> trimestre 2004. On peut donc de plus en plus douter que l'actuel Parlement européen pourra rendre un avis avant les élections de mai 2004..., élections à l'issue desquelles une nouvelle Commission sera constituée.

Il faut tout particulièrement regretter que l'étude confiée par la Commission à RPA pour évaluer les conséquences économiques des propositions sur l'industrie et plus généralement sur l'ensemble de l'économie n'ait toujours

pas été rendue publique et qu'une fourchette correspondant à un coût de 18 à 32 milliards d'euros, pour l'ensemble de l'économie européenne, sur une période allant jusqu'en 2020, ait néanmoins été avancée.

Cela est d'autant plus regrettable que ces estimations sont sans commune mesure avec celles résultant de l'étude Mercer et de l'étude Arthur D Little en Allemagne.

#### • Réponse à la consultation sur Internet

L'UIC participe aux travaux du CEFIC destinés à étudier les 1 200 pages soumises à consultation. A l'issue de cette phase d'analyse, elle répondra, de manière coordonnée avec le CEFIC, sur la base de ses 5 propositions (voir *encadré*) rappelées à l'occasion de la présentation des résultats et des enseignements de l'étude Mercer. Compte tenu de l'importance des enjeux et de l'expérience acquise par l'UIC depuis la parution en février 2001 du *Livre blanc*, il est indispensable que les adhérents de l'UIC répondent également individuellement pour montrer concrètement quelles seraient les conséquences pour leurs activités, quelles difficultés ils rencontreraient et quelles propositions ils font pour que le futur système REACH soit applicable et respecte les objectifs du *Livre blanc*, sans porter atteinte à la compétitivité des entreprises et plus généralement à l'ensemble de l'économie.

### Les cinq propositions de l'UIC

- 1 - Le champ d'application de REACH (« registration, evaluation and autorisation of chemicals ») doit être limité aux substances chimiques mises sur le marché en quantité supérieure à une tonne par an. Les polymères et les intermédiaires de synthèse non commercialisés doivent être exclus du champ d'application. Les additifs de performance doivent être soumis à des exigences adaptées à leurs usages.
- 2 - Les exigences de REACH en matière de tests doivent tenir compte de l'exposition et être proportionnées aux risques et non aux seules quantités et propriétés intrinsèques de danger. Le CEFIC (« European Chemical Industry Council ») a fait en septembre 2001 des propositions dans ce sens dans un document dit « Thought Starter ».
- 3 - La procédure d'autorisation doit se limiter aux usages des substances classées CMR catégories 1 et 2 (cancérogènes, mutagènes, et toxiques pour la reproduction) et aux POP (polluants organiques persistants) retenus par la convention de Stockholm.
- 4 - Le calendrier de REACH doit respecter un rythme soutenable par les autorités et les industriels. Il doit être pertinent pour que le public puisse rapidement apprécier les premiers effets de la nouvelle réglementation.
- 5 - Une Agence européenne gérant la totalité du système REACH doit être créée par extension de l'actuel Bureau européen des substances chimiques (ECB) afin que les États membres ne réalisent pas eux-mêmes leurs propres travaux d'évaluation, car ceci entraînerait des dysfonctionnements en terme de délais ou sur le plan de l'égalité de traitement.

## Industrie

### Bayer Polymers en ordre de marche

Il aura fallu deux ans à Bayer Polymers pour se remettre en ordre de marche. Après le retrait du Baycol qui a déstabilisé le groupe en août 2001, et sa réorganisation consécutive en 4 divisions opérationnelles indépendantes (voir *L'Act. Chim.*, juillet 2002, p. 17), c'est sa division Polymères qui a ouvert le ban et s'est présentée à la presse dans son nouvel uniforme !

Profitant du cinquantenaire du polycarbonate – une invention du Dr Hermann Schnell des Laboratoires de Bayer, qui allait, en 1953, à l'encontre des connaissances admises de la réactivité du phosgène sur le bisphénol A – le Dr Hagen Noerenberg, nouveau directeur de la plus grande division de Bayer – 38 % du CA du groupe, devant la Santé (33 %), l'Agrochimie (17 %) et la Chimie (12 %) – a présenté sa nouvelle structure à la presse.

Avec un chiffre d'affaires de 10,5 milliards d'euros – correspondant à une production de l'ordre de 5,8 millions de t/an – sa division se situe au 2<sup>e</sup> rang, pratiquement à égale distance entre le leader mondial (Dow Chemical, CA : 14,4) et son suivant et voisin immédiat (BASF, CA : 8,5). En 10 ans, la production de polymères de Bayer a cru au rythme de 8,5 %/an. A présent, leur production et vente vont s'organiser autour des 4 segments homogènes suivants :

- les polymères thermoplastiques : polymères semi-cristallins type polyamides, styréniques et polycarbonates, à l'état de plaques ou de pièces moulées ;
- les caoutchoucs : élastomères butyle et à base de butadiène, caoutchoucs techniques, additifs pour caoutchoucs ainsi que la filiale indépendante Rhein Chemie ;
- les polyuréthanes et matières premières pour mousses revêtements et adhésifs : TDI, MDI, polyéthers et isocyanates modifiés ;
- enfin les polyesters, polyuréthanes thermoplastiques, les produits minéraux de base, utilisables comme charges et pigments, ainsi que la filiale Bayer Fibre.

Dans chacune de ses activités, Bayer se situe dans les premières places mondiales : leader mondial des isocyanates, polyéthers et caoutchoucs synthétiques, en 2<sup>e</sup> position pour les carbonates et les additifs pour caoutchoucs.

Dans une conjoncture mondiale passablement déprimée, le CA 2002 n'a reculé que de 2,2 % par rapport à 2001, tandis que le résultat opérationnel s'est maintenu à 418 millions d'euros.

N'analysons et ne commentons pas trop les résultats annuels. Retenons essentiellement de son intervention la confiance dont a fait preuve le Dr Hagen Noerenberg – un chimiste formé dans les universités de Goettingen et de Braunschweig – lors de son intervention, et que nous sommes prêts à partager. Elle repose sur une analyse fine des marchés essentiels des polymères et une évaluation objective des compétences de Bayer : dans une conjoncture où les marges des produits standards sont prises en ciseaux par la hausse des prix des matières premières et la baisse des prix de vente, les polymères de Bayer ont l'avantage de se vendre dans des applications où les taux de croissance restent encore significatifs.

Gilbert Schorsch

### Roche sous le signe d'une ère nouvelle

En mai dernier, les bilans de 2002 et du premier trimestre 2003 ont été présentés à Paris par Franz B. Humer (CEO de Roche), Henry Charbonné (président de Roche France) et Bertrand Le Bert (président de Roche Diagnostics France). Cette période marque un changement important dans les activités du 2<sup>e</sup> groupe pharmaceutique suisse puisqu'elle correspond à son **désengagement de l'activité Vitamines et chimie fine**, cédée à la société néerlandaise DSM (le contrat de vente a été signé en février 2003 et la cession a reçu l'aval des autorités américaine et européenne), son **changement de taille significatif au Japon** avec l'intégration de la société Chugai, qui a fait passer Roche de la 32<sup>e</sup> à la 5<sup>e</sup> place au Japon et lui permet de devenir le 2<sup>e</sup> groupe pharmaceutique étranger dans ce pays, et enfin la **consolidation de sa place de leader mondial dans le domaine du diagnostic médical** (19 % du marché mondial) par le biais d'alliances stratégiques et d'acquisitions (Disetronic, Affymetrix, Epigenomics).

En 2002, les ventes de Roche ont atteint 29,725 milliards de francs suisses (Md CHF), ce qui représente une augmentation de 2 % par rapport à 2001. La division Pharmacie se situe dans la moyenne (chiffre d'affaires : 19,306 Md CHF, + 2 %), alors que la

division Diagnostics a réalisé une performance supérieure (CA : 7,239 Md CHF, + 5 %) et que la division Vitamines et chimie fine a sous-performé (CA : 3,391 Md CHF, - 4 %). Si l'on exclut cette dernière activité désormais vendue, la répartition des ventes 2002 par division est de 73 % pour la pharmacie et 27 % pour le diagnostic, et par région : Amérique du Nord, 40 % ; Europe, 37 % ; Asie, 13 % ; Amérique Latine, 7 % et autres 3 %.

En France, la division Pharmacie a réalisé un CA de 626,2 millions d'euros, en léger recul par rapport à 2001 ; Roche France est le 10<sup>e</sup> laboratoire français (2<sup>e</sup> à l'hôpital et 17<sup>e</sup> en ville) avec une part de marché de 2,9 %. La division Diagnostics a réalisé un CA de 264,4 millions d'euros, en augmentation de 11,7 % par rapport à 2001 ; elle est leader avec une part de marché de 19 %.

Le premier trimestre 2003 a été très bon pour la division Pharmacie (+ 18 % en monnaies locales, + 5 % en CHF), soit une croissance deux fois plus rapide que celle du marché mondial, et bon pour la division Diagnostics (+ 7 % en monnaies locales, - 3 % en CHF), nettement supérieure à celle du marché mondial. **Pour l'année 2003, Roche confirme ses prévisions d'une croissance à deux chiffres du CA et du bénéfice d'exploitation en monnaie locale, et une stabilité de la marge d'exploitation du groupe.**

Pour la division Pharmacie, la répartition des ventes en 2002 par domaine thérapeutique des produits de prescription a été : oncologie 29 %, maladies infectieuses et virologie 17 %, maladies inflammatoires et auto-immunes 10 %, désordres métaboliques 10 %, maladies cardiovasculaires 9 %, maladies du système nerveux central 8 %, dermatologie 6 %, anémie 5 %, autres 6 %. Grâce notamment au Mabthera/Rituxan® (traitement du lymphome), à l'Herceptin® (traitement du cancer du sein) et au Xeloda® (traitement des cancers colorectal et du sein), Roche a considérablement accru ses ventes en oncologie (plus de 5 Md CHF) et a ainsi consolidé sa place de leader mondial dans ce domaine. En virologie, Roche a réalisé une forte croissance de ses ventes grâce aux nouveaux produits introduits en 2002 : Copegus® et Pegasys® (traitement de l'hépatite C), Tamiflu® (traitement de la grippe) ; ces résultats se sont encore amplifiés au premier trimestre 2003.

Pour les prochaines années, Roche a renforcé significativement son « pipeline » de nouveaux produits, qui



contient 40 nouvelles entités moléculaires dont 14 en phase II, et déposera 29 demandes d'autorisation de mise sur le marché d'ici 2007.

En France, le portefeuille diversifié et en plein renouvellement (plus de 15 produits innovants introduits depuis 1997), avec 99,85 % du CA et 80 % de produits avec un service médical rendu majeur ou important, doit permettre à Roche d'avoir une croissance supérieure à celle du marché, de renforcer sa place de leader dans le domaine hospitalier, et de rester ou devenir leader en anémie, oncologie, obésité et virologie, grâce notamment à Pegasys®, Tamiflu® et Fuzeon® (traitement du sida).

Concernant la division Diagnostics, la répartition des ventes en 2002 par secteur d'activité a été : diagnostics centraux 36 %, diabète 35 %, diagnostics moléculaires 13 %, tests sur patients 8 % et « applied science » 8 %. Dans ce secteur, Roche continue de progresser plus vite que ses concurrents et renforce donc sa place de leader mondial avec une part de marché de 19 % au premier trimestre 2003.

De nombreux lancements dans tous les domaines sont prévus en 2003 pour optimiser la gestion de l'information médicale (transmission infrarouge), innover en biologie moléculaire (risque infectieux et oncologie) et améliorer le diagnostic biologique médical grâce aux progrès de la génomique et aux puces ADN.

**En France, Roche Diagnostics réalise les mêmes performances que sur le marché mondial.**

Roche, qui fête son centenaire en 2003, a connu une période de grands changements depuis 1990 : par des cessions (Parfums et arômes, Vitamines et chimie fine) qui représentaient environ 35 % de son CA en 1990, et des acquisitions (Genentech, PCR, Syntex, Boehringer Mannheim, Chugai, Disetronics), Roche est devenu une

société « pure player » en pharmacie et diagnostic. Compte tenu de ce nouveau profil, les perspectives sont favorables en matière de progression du CA et d'amélioration du bénéfice d'exploitation (au-delà de 20 % dès 2004 pour la division Pharmacie et en 2006 pour la division Diagnostics). Aucune fusion, notamment avec Novartis, n'est donc à l'ordre du jour.

Yves Dubosc

## La chimie au quotidien

### Mille saveurs se bousculent aux portes du Palais !

Le Palais de la découverte et l'INRA vous invitent à découvrir « **A table ! L'alimentation en questions** ». Cette exposition est un bel exemple de partenariat entre un organisme de recherche public et un lieu de diffusion de la culture scientifique pour un large public. A travers une mise en scène interactive qui fait intervenir les cinq sens, un contenu scientifique riche et l'implication de professionnels des métiers de bouches (grands chefs, producteurs, industriels...), l'exposition nous montre sur 1 000 m<sup>2</sup> toutes les facettes de l'alimentation, de la matière première au produit fini (vous pourrez assister notamment à la fabrication de yaourts et y goûter). Elle pose les questions essentielles, des modes de production à l'alimentation du futur, en passant par la sécurité et l'équilibre alimentaire. On y trouve même une cuisine-laboratoire de chimie où l'on assiste à des expériences de chimie ludiques appliquées à la nourriture (due, bien évidemment, à Hervé This, que vous aurez peut-être la chance de voir « opérer »). L'exposition est ponctuée de cycles de débats et de conférences, ateliers... dont la liste est disponible sur le site Internet.

dès 1945, date à laquelle il obtint sa thèse d'agrégation à l'enseignement supérieur, l'étude des processus irréversibles qui l'ont amené à développer un intérêt récurrent pour le concept de temps. Il rendit compte de la valeur créative des phénomènes aléatoires et élabora la théorie des « structures dissipatives ».

Il était professeur émérite à la faculté des sciences de l'Université Libre de Bruxelles, dont il dirigeait le service de chimie-physique depuis 1951. Il dirigeait également depuis 1959

\* Jusqu'au 1<sup>er</sup> janvier 2004. Palais de la découverte, avenue Franklin Roosevelt, 75008 Paris. <http://www.palais-decouverte.fr>

## L'Espace des sciences de Paris, une passerelle entre la cité et le monde scientifique

Tandis que le progrès technique apporte chaque jour de nouveaux moyens de guérir, de communiquer et de construire, la distance entre le monde de la science et celui de la cité s'accroît dangereusement. C'est sur ce constat que s'appuie l'action de l'Espace des sciences de Paris, qui veut être un point de rencontre entre les parisiens et le monde scientifique. Cette manifestation, organisée par l'ESPCI avec le soutien de la Mairie de Paris, comporte trois volets : expositions, conférences grand public avec des expériences et accompagnement de l'enseignement des sciences.

Les **conférences grand public**, sept sont programmées en 2003, un lundi par mois à 18 h 30 dans l'amphi Langevin (la première ayant eu lieu le 28 avril). Elles seront enregistrées et disponibles sur le site Internet. Ces expériences sont réalisées en public par des spécialistes issus du secteur public ou industriel et font intervenir des expériences pour comprendre le monde qui nous entoure. Elles renouent avec une tradition vieille de plus d'un siècle, à l'époque où les scientifiques présentaient leurs résultats dans des réunions publiques.

D'autre part, une **exposition célébrant le centenaire du prix Nobel des Curie** ouvrira à partir du 12 octobre 2003, montrant entre autres la réplique de leur expérience avec des instruments d'époque.

• Entrée libre, réservation conseillée. Espace des sciences de Paris, ESPCI, 10 rue Vauquelin, 75005 Paris. <http://www.espci.fr/esp/>

les Instituts internationaux de physique et de chimie Solvay, et depuis 1967 le Centre de mécanique statistique et de thermodynamique de l'Université du Texas. Auteur d'un grand nombre d'articles et de communications, il a recueilli les conclusions épistémologiques de ses travaux dans « *La Nouvelle Alliance* », écrit en collaboration avec Isabelle Stengers.

Un autre titre, « *La fin des certitudes, temps, chaos et lois de la nature* » est également à lire.



### Ilya Prigogine (1917-2003)

Le physico-chimiste belge d'origine russe, Ilya Prigogine, est mort le 28 mai dernier, à Bruxelles, à l'âge de 86 ans.

Prix Nobel de chimie en 1977 pour ses contributions à la thermodynamique des processus irréversibles, Ilya Prigogine fut l'une des grandes figures scientifiques de notre temps. Il aborda

## Livres



### Mass spectrometry in drug discovery

David T. Rossi et Michael W. Sinz (eds)  
420 pages, 165 \$  
Marcel Dekker, New York, 2002

Le jury du prix Nobel de chimie a salué en 2002 l'importance des nouvelles méthodes de spectrométrie de masse, en attribuant en partie le prix à John Fenn pour ses travaux sur l'ionisation électrospray et à Koichi Tanaka pour sa contribution aux méthodes douces d'ionisation utilisant la désorption par laser. Il est intéressant de voir paraître des ouvrages issus d'utilisateurs de ces méthodes qui viennent utilement compléter les précédents ouvrages de spectrométrie de masse, plus fondamentaux ou technologiques, plutôt rédigés par des concepteurs d'appareillages.

Celui-ci est écrit par des utilisateurs dans les laboratoires de grands groupes pharmaceutiques. Parmi les seize auteurs et co-auteurs de l'ouvrage, trois sont affiliés à des universités, mais tous les autres œuvrent dans des laboratoires pharmaceutiques – principalement chez Pfizer pour huit d'entre eux, dont l'un des deux coordinateurs de l'ouvrage, David Rossi ; et un chez Bristol-Myers Squibb, il s'agit de Michael Sinz, l'autre coordinateur. David Rossi ne s'est pas contenté de solliciter des articles auprès de collègues et s'est beaucoup impliqué dans ce livre en signant seul ou co-signant six parmi les treize chapitres. Il en résulte une grande homogénéité et l'absence d'informations redondantes au fil des chapitres, finalement peu nombreux et bien appropriés.

Dans les ouvrages destinés à décrire des applications, le rappel des principes fondamentaux dans les premiers chapitres est souvent la partie faible du texte, à l'origine des principales critiques de spécialistes. Ce n'est pas le cas ici, car les rappels sur les principes des méthodes d'ionisation employées en spectrométrie de masse

pour la pharmacie, ou pour décrire les principes de base des analyseurs de masse, sont clairs et bien présentés. La description de l'analyseur quadripolaire, de ses modes d'utilisation en techniques combinées de MS/MS, est de ce point de vue très bien fait, alors que ce sujet est souvent obscur ou à peine évoqué dans beaucoup de textes sur la spectrométrie de masse. A ce titre, l'ouvrage est donc également un bon texte d'apprentissage des méthodes modernes de spectrométrie de masse, même si le lecteur compte l'utiliser dans d'autres domaines (contrôle de l'environnement, des aliments, du dopage, etc.). A contrario, ceux qui souhaitent s'orienter dans les domaines pharmaceutiques – mise au point et contrôle de qualité des médicaments, études pharmacocinétiques, etc... – trouveront là une source utile d'exemples et de références.

Cet ouvrage de spécialistes, paru à un moment opportun, accompagne le développement constaté des méthodes de spectrométrie de masse dans les secteurs de la pharmacie et de la biologie. On peut également en suggérer la lecture à tous ceux qui, d'une manière générale, s'intéressent aux méthodologies décrites dans ce texte et qui trouvent leur application dans de nombreux autres domaines.

Patrick Arpino



### Pharmaceutical chemistry Therapeutic aspects of biomacromolecules

C.M. Bladon  
221 pages, 24,95 £  
John Wiley & Sons, 2002

L'objectif déclaré de l'auteur est d'introduire quelques-unes des stratégies utilisées pour le développement et la production de macromolécules biologiques à usage thérapeutique.

L'ouvrage est organisé en cinq parties : peptides et protéines endogènes, modifications des peptides et protéines endogènes,

système immunitaire, oligonucléotides, oligosaccharides. Chaque partie est suivie de quelques références pertinentes de revues récentes qui auraient pu être indexées dans le texte pour permettre un accès rapide à un complément d'information.

La première partie décrit en quatre chapitres (extraction, synthèse chimique, clonage, transgénèse) les voies d'accès aux peptides et protéines endogènes. Une description théorique et synthétique des techniques est suivie d'exemples de productions industrielles. Deux applications thérapeutiques concernant l'insuline et les protéines impliquées dans la coagulation du sang sont traitées dans les derniers chapitres.

Les modifications structurales apportées à ces macromolécules pour améliorer leur biodisponibilité et leur spécificité d'action sont abordées dans la seconde partie sous forme de trois chapitres concernant les mimétiques de peptides, les modifications chimiques des protéines et l'ingénierie des protéines.

La troisième partie, entièrement consacrée à l'immunologie, est parfois redondante avec la précédente. Après une brève description du mécanisme de la réponse immunitaire, quatre chapitres traitent successivement des anticorps, des vaccins, de la réponse immunitaire assurée par des cellules et du traitement du cancer par immunothérapie.

La quatrième partie concerne les oligonucléotides. Elle aborde la thérapie génique, l'approche anti-sens et les ribozymes. L'auteur insiste de façon objective sur les difficultés rencontrées pour l'utilisation des oligonucléotides qui expliquent le peu d'applications ayant abouti à ce jour.

Enfin, la dernière partie traite des oligosaccharides. Après un premier chapitre décrivant certaines des méthodes de glycosylation, le second chapitre traite l'exemple de l'héparine et ses dérivés. Le chapitre consacré aux glycoprotéines et à leur rôle dans la détermination des groupes sanguins n'apporte pas d'information sur les applications thérapeutiques éventuelles. Sont enfin traités les oligosaccharides comme outils pour la vaccination.

En résumé, cet ouvrage très didactique et de lecture agréable présente une vue d'ensemble sur les applications thérapeutiques réelles et potentielles des peptides, protéines, oligonucléotides et oligosaccharides. Chaque chapitre est toujours précédé

d'une courte introduction expliquant son objectif et son contenu. Pour chaque technique chimique ou biochimique mentionnée dont les avantages et les limites sont présentés de façon objective, les bases théoriques nécessaires à une bonne compréhension sont décrites de façon concise. De plus, un appendice et un glossaire permettront en fin d'ouvrage aux non spécialistes de mieux comprendre certaines nomenclatures et structures chimiques, ainsi que des termes biologiques spécifiques. Enfin, même s'ils ne sont pas exhaustifs, les nombreux exemples d'applications font de cet ouvrage un outil de base pour l'étudiant ou le chercheur qui veut avoir une idée de l'état actuel des développements du domaine et des progrès qu'il reste à faire.

Philippe Durand  
et Bernard Badet



### Chimie générale pour ingénieur

Claude K. W. Friedli  
747 pages, 79 €  
Presses polytechniques et universitaires romandes, 2002

Dès le préambule, l'auteur annonce très clairement les objectifs de son ouvrage : apporter les notions essentielles de chimie à l'élève ingénieur, l'aider à réfléchir à la manière du chimiste et montrer l'importance de la chimie dans tous les domaines. Ces trois objectifs me semblent parfaitement atteints grâce à un livre complet, clair et précis. Les propos de l'auteur sont complétés par une documentation bien choisie et des illustrations de grande qualité pédagogique.

Dans la partie atomistique, l'auteur s'attache d'abord à exposer et à expliquer les concepts les plus importants conduisant aux modèles traditionnels de l'atome. Ces modèles sont décrits simplement, sans débauche d'expressions mathématiques, mais avec des illustrations graphiques très explicites. Les conclusions issues de ces modèles sont plus importantes que

les modèles eux-mêmes et les chapitres 4, 5 et 6 (périodicité, groupes d'éléments, liaisons), d'une rare clarté, constituent une source d'informations remarquable.

La seconde partie (chap. 7, 8 et 9) est consacrée à la réaction chimique sous ses divers aspects : qualitatif et quantitatif, thermodynamique et cinétique. Toutes les notions importantes sont présentes et illustrées par des exemples concrets choisis avec justesse. Le chapitre thermodynamique est d'une très grande clarté et d'une simplicité peu courante : pas de dérivées partielles, pas de « Cp à rallonges » ; enfin un auteur pour qui enthalpie et entropie restent sensiblement constantes !

La chimie en solution aqueuse (chap. 10 et 11) est de qualité comparable. De nombreuses connaissances théoriques essentielles à l'ingénieur sont présentées et commentées au travers d'applications pratiques.

Le chapitre 12 (chimie organique) constitue une volumineuse partie de 120 pages. L'importance industrielle et les conséquences sur le vivant de cette chimie justifient la taille de ce chapitre. Les principales réactions et fonctions de chimie organique sont données avec précision. J'ai apprécié que les réactions de synthèse industrielle soient toujours données avant les réactions dites de laboratoire. Les trois derniers chapitres très physico-chimiques apportent des informations importantes trop souvent passées sous silence dans de nombreux manuels de chimie générale, alors que les phénomènes décrits ont des applications quotidiennes : photochimie, chimie des surfaces, colloïdes. En conclusion, ce livre est très homogène, tous les chapitres comportant une part d'apports théoriques et pratiques. Quand l'opportunité se présente, quelques mots concernant les risques et dangers arrivent fort à propos. Chaque chapitre se termine par un résumé très concis. Le texte est toujours clair et précis, le langage simple et direct, les mots inhabituels ou nouveaux étant définis dans un glossaire complet et détaillé. Quelques rares oublis typographiques dans certains schémas n'altèrent heureusement pas leur compréhension. Une question cependant : pourquoi ce titre « chimie générale pour ingénieur » alors que nous avons 747 pages de « chimie appliquée » ?

Jack Thourey

## A signaler

### Pratique des plastiques et composites. Choix, contrôle, production, qualité

Présenté sous forme de classeurs régulièrement complétés et actualisés et accompagné d'un CD-Rom d'aide au choix des polymères, ce guide s'adresse à tous les professionnels du secteur des plastiques et composites. 4 classeurs, 3 500 p., 1 CD-Rom 299 € HT, Dunod, 2003

### Encyclopedia of catalysis

I.T. Horvath  
6 vol., 685 £  
Wiley, janv. 2003

### Quasicrystals An introduction to the structure, physical properties and applications

Springer series in materials science (vol. 55)

J.B. Suck, M. Schreiber, P. Haeussler  
550 p., 105,45 €  
Springer, 2002

### Nanostructured magnetic materials and their applications Lecture notes in physics (vol. 593)

D. Shi, B. Aktas, L. Pust, F. Mikailov (eds)  
300 p., 70,63 €  
Springer, 2002

### A practical guide to understanding the NMR of polymers

P.A. Mirau  
300 p., 105,90 €  
Wiley, oct. 2002

### Molecular organisation on interfaces Progress in colloid and polymer science (vol. 121)

G. Lagaly  
100 p., 63,25 €  
Springer, 2003

### Handbook of fuel cells

W. Vielstich  
4 vol., 795 £  
Wiley, fév. 2003

### Modern advances in chromatography Advances in biochemical engineering/biotechnology (vol. 76)

R. Freitag  
270 p., 167,75 €  
Springer, 2002

## Nanocomposites à charges lamellaires et matrice polymère

Compte rendu d'un atelier de prospective, Lyon, 20-21 mars 2003

Un atelier de prospective sur les nanocomposites, organisé par Roland Seguela et l'équipe des polyméristes de l'INSA-Lyon, sous l'égide du GFP/V2P, du Belgium Polymer Group (BPG), de la Fédération des Polyméristes Lyonnais et de l'Agence Rhône-Alpes pour la maîtrise des matériaux (ARAMM), a rassemblé plus d'une centaine de personnes. Cet atelier avait pour objectif de faire le point sur la situation des nanocomposites à matrice polymère et à charges lamellaires, en présentant les récentes avancées dans le domaine et en précisant les enjeux et les problèmes qui se posent encore aujourd'hui au niveau de la recherche et du développement industriel. La dimension nanométrique des charges semble apporter à ces nouveaux matériaux un profil de propriétés spécifiques, mais qui ne sont pas toujours exploitées de façon optimale.

Huit conférences plénières ont porté sur **l'élaboration et la mise en œuvre des nanocomposites, leur caractérisation, la modélisation de leur comportement** ainsi que sur **leurs propriétés et leurs domaines d'application**. Dans une table ronde très animée, industriels et universitaires ont confronté leurs points de vue sur le sujet, et évoqué concrètement les **perspectives de développement industriel et le positionnement européen au plan mondial**. Enfin, des communications par posters ont enrichi cet atelier par des résultats de recherche récents émanant de diverses équipes actives sur ce thème et participant à l'atelier.

### Les points clés de l'élaboration et de la mise en œuvre des nanocomposites

Les nanocomposites considérés sont constitués d'une **dispersion de plaquettes ou lamelles argileuses dans une matrice polymère**. La charge la plus utilisée est la **montmorillonite**, constituée d'un ensemble de feuillets (type « millefeuilles »). Les dimensions des feuillets individuels sont de l'ordre du nanomètre en épaisseur et de plusieurs dizaines de nm en longueur et largeur, ce qui leur confère un **coefficient de surface très élevé** (de 100 à 1 000 m<sup>2</sup>/g), et un très fort

### Liste des conférences

- Henry Van Damme** (ESPCI, Paris)  
Nanostructuration de la matière. Analogie avec les matériaux naturels.
- Jacques Yvon** (École de géologie, Nancy)  
Nanoplaquettes naturelles et synthétiques et modification.
- Jean-François Gérard** (LMM-INSA, Lyon)  
Méthodes d'élaboration des nanocomposites, différentes voies.
- Jean-François Tassin** (Université du Maine, Le Mans)  
Rhéologie des suspensions nanofeuillets/polymères.
- Philippe Dubois** (Belgium Polymer Groupe/Université de Mons)  
Historique et chiffres clés sur les nanocomposites.
- Gérard Vigier** (GEMPPM-INSA, Lyon)  
Caractérisations structurales/états de dispersion.
- Rémy Dendievel** (Université de Grenoble)  
Comportement mécanique des nanocomposites et modélisation.
- Eliane Espuche** (LMPB, Université UCBL)  
Propriétés barrières des nanocomposites.
- Giovanni Camino** (Politecnico Turin/Alessandria)  
Tenue thermique et au feu des nanocomposites.

facteur de forme (longueur/épaisseur > 100). Ces caractéristiques ont une influence déterminante sur les propriétés des nanocomposites.

Les principaux **enjeux de l'élaboration** des nanocomposites concernent **l'exfoliation** des charges (la séparation des feuillets individuels), leur **dispersion** dans la matrice, et enfin la maîtrise de **l'interaction charge-polymère**. Suivant l'état d'exfoliation et de dispersion dans la matrice, on peut distinguer trois types de structures (*figure 1*) :

- une structure **non exfoliée**, lorsque les feuillets restent agglomérés sous forme de paquets ;
- une structure **intercalée**, avec des feuillets incomplètement séparés et des liaisons polymères partielles entre feuillets ;
- une structure **exfoliée** (ou délaminée) avec des feuillets individuels bien séparés et correctement dispersés et des liaisons polymère-feuillet fortes.

L'exfoliation des charges est liée notamment à la structure cristalline de l'argile et à la présence d'ions dans celle-ci. On observe des comportements différents suivant la localisation du cation dans la structure. D'une manière générale, plus la charge électrostatique de l'argile est importante, plus l'exfoliation est difficile et plus les plaquettes ont tendance à rester sous forme de paquets. La préparation de l'argile a également un impact sur son exfoliation. Le mode de séchage influe sur sa capacité à se disperser. La première et principale étape de la dispersion consiste à séparer suffisamment les feuillets pour diminuer les forces électrostatiques et de Van der Waals. Il existe différentes méthodes pour favoriser la séparation des feuillets élémentaires. La principale, de nature mécanique, est le cisaillement s'opérant lors de la mise en œuvre du « compound » polymère-charge.

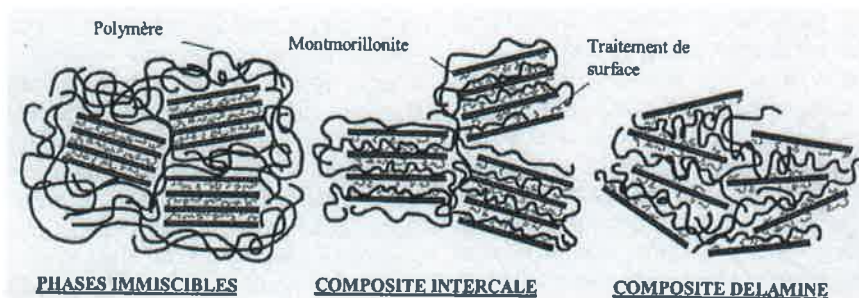


Figure 1 - Représentation des trois états morphologiques d'un nanocomposite chargé montmorillonite.

Pour favoriser l'interaction polymère-charge, on effectue un traitement des charges avec des ions organiques (surfactants) qui se collent sur la surface des feuillettes et les rendent organophiles. On utilise principalement des **ions ammonium organiques**, qui présentent malheureusement une résistance thermique insuffisante aux températures parfois élevées des procédés de mise en œuvre : l'identification de surfactants ou autres agents de traitement efficaces et plus résistants thermiquement est l'un des objectifs de la recherche actuelle.

Il existe différentes **méthodes d'élaboration et de mise en œuvre** des nanocomposites. La « voie directe » consiste à intercaler les chaînes de polymères entre les feuillettes d'argile. Elle peut être réalisée **en solution ou en milieu fondu**. Dans le cas de polymères peu polaires comme les polyoléfines, on fait souvent intervenir un **agent de compatibilisation** entre la matrice et les charges qui peut être, par exemple, du polypropylène greffé avec de l'anhydride maléique. L'élaboration du nanocomposite peut également être réalisée par intercalation du monomère entre les feuillettes, puis polymérisation *in situ*. L'exfoliation se passe alors durant la polymérisation du monomère qui conduit à la séparation des nanoplaquettes. La fixation sur la surface des feuillettes de molécules organiques participant à la réaction de polymérisation est aussi une stratégie décrite dans la littérature pour accroître la liaison polymère-nanocharge. Le **cisaillement lors de la mise en œuvre** est un outil de dispersion et favorise l'exfoliation des charges. Ainsi, en jouant sur le profil de vis d'une extrudeuse, on peut obtenir différents types de dispersion. Le cisaillement a également une influence sur l'orientation des plaquettes, facteur déterminant pour les propriétés mécaniques ou barrières du composite.

Les nanocomposites ont un comportement rhéologique particulier. La formation d'un gel peut intervenir avec environ 2 % de charges seulement. La présence d'agrégats fractals et de structures de type mousse permettrait d'expliquer certaines caractéristiques du comportement de ces systèmes. Dans le domaine linéaire, la sensibilité à la déformation de ces systèmes augmente avec le taux de charges et le comportement polymère de la matrice disparaît rapidement. On passe d'un comportement liquide à « pseudo-solide » avec une très forte sensibilité à la dispersion des particules. Le cisaillement modifie la structure du nano-

composite par l'orientation des plaquettes. La viscosité de la matrice joue également un rôle non négligeable sur la dispersion des charges.

### Caractérisation et modélisation des nanocomposites

Actuellement, il n'existe **pas de modèle mécanique adapté** pour les nanocomposites en raison notamment des effets d'interface amplifiés et de la présence de phénomènes d'agrégation. Les rôles de la morphologie et du mode de répartition au sein de la matrice sont mal connus et il est difficile de prévoir leurs propriétés mécaniques ou thermiques en fonction du degré d'exfoliation.

D'après les travaux réalisés à ce jour, on observe, à l'état vitreux, une évolution régulière du module avec la fraction de renfort et une faible influence de la taille « nano » des charges. Dans ce domaine vitreux, on arrive à des prédictions correctes avec les approches mécaniques classiques. Par contre, à l'état caoutchoutique, le module dépend de la dispersion des renforts, des interactions charge/matrice et des propriétés du réseau de charges. Dans ce cas, il y a peu de modèles mécaniques adaptés. La modélisation doit prendre en compte le nombre de contacts, qui dépend de la forme des particules et de la mise en œuvre, et la nature des liens entre les charges (interactions charge/matrice et charge/charge). Plusieurs approches sont en cours de développement pour étudier l'effet de ces différents paramètres.

La caractérisation microstructurale est essentielle pour la compréhension des relations entre la structure et les propriétés des nanocomposites. Plusieurs techniques sont utilisées aujourd'hui pour la caractérisation de ces matériaux :

- La microscopie électronique à balayage (MEB) n'a qu'une faible résolution (quelques nm) mais elle est bien adaptée aux études de surface, à l'examen de fractures par exemple. Elle peut aussi être couplée à une analyse élémentaire, via une sonde EDAX.

- La microscopie électronique à transmission (MET) offre une résolution jusqu'à 0,2 nm et permet, entre autres, d'observer directement les feuillettes et leur orientation. La préparation des échantillons est difficile (ultra microtomie) et la taille des échantillons très faible peut entraîner des conclusions non pertinentes.

- La diffraction des rayons X permet de mesurer des distances inter-réticulaires. Cette technique est utilisée pour caractériser le taux d'exfoliation,

les structures cristallines, et avoir une estimation de l'épaisseur des plaquettes.

- La diffraction en réflexion apporte une analyse de la surface sur quelques microns. On ne voit que les plans parallèles à la surface.

- La diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) est bien adaptée au problème des nanocomposites en raison du fort contraste électronique entre les charges et la matrice. Cette technique donne de bonnes informations sur l'épaisseur des plaquettes, les distances inter-plaquettes et les textures des charges.

Ces techniques permettent donc de définir des paramètres microstructuraux (exfoliation, intercalation, répartition et orientation des plaquettes, distribution des épaisseurs) et de les relier aux propriétés du matériau. Il faut cependant être prudent dans l'interprétation des résultats et il est nécessaire de coupler les différentes techniques d'analyse pour valider les conclusions.

### Les applications des nanocomposites : films barrières et matériaux anti-feu

A ce jour, il ne semble pas que l'utilisation des nanocharges lamellaires dans les composites ait apporté des gains suffisamment importants de propriétés pour envisager le remplacement des matériaux traditionnels (en particulier les films multicouches). On entrevoit plutôt l'utilisation de ces matériaux pour **élargir le domaine d'utilisation des polymères** grâce à l'amélioration simultanée de plusieurs de leurs propriétés. Leur emploi peut aussi être un moyen de **réduire, voire de supprimer, certains additifs à usage restreint** (ignifugeants halogénés, par exemple). Deux applications ont particulièrement retenu l'attention des chercheurs et des industriels : les **films barrières** et les **matériaux anti-feu**.

Les **films barrières** ont pour fonction de faire obstacle au passage des petites molécules liquides ou gazeuses. La perméabilité est le produit du coefficient de diffusion et de la solubilité de ces petites molécules dans le matériau. L'introduction de charges imperméables dans le matériau permet d'augmenter les propriétés barrières, mais leur effet est nettement plus marqué si elles ont un **facteur de forme élevé** qui allonge le chemin de diffusion des molécules (augmentation de la tortuosité) et réduit ainsi le coefficient de diffusion. La solubilité diminue avec le taux de charges selon une loi qui dépend de l'orientation. Ainsi, grâce à leur facteur de forme élevé, les nano-

composites à charges lamellaires ont des propriétés barrières plus importantes que les microcomposites et il sera possible d'atteindre le même niveau d'imperméabilité avec des **taux de charges beaucoup plus faibles**. On peut diminuer la perméabilité d'un facteur 2 avec 2 % de montmorillonite et d'un facteur 10 avec 8 % de montmorillonite. Le facteur de forme des charges est un paramètre important ainsi que leur exfoliation et leur orientation. La formation d'agrégats est défavorable à la réduction de la perméabilité. L'effet prépondérant dans la diminution de la perméabilité semble être la **tortuosité** liée à la présence des charges. Les procédés de mise en œuvre ont un rôle essentiel car ils peuvent permettre l'orientation des plaquettes. Le procédé donnant les meilleurs résultats semble être l'**extrusion/soufflage**.

Il faut noter qu'à ce jour, il n'est pas possible de réaliser, avec des faibles taux de nanofeuillets, des nanocomposites barrières avec des matériaux qui ne possèdent déjà cette propriété, en jouant uniquement sur l'effet de tortuosité. L'introduction de nanocharges lamellaires dans un matériau polymère ne laisse espérer aujourd'hui une augmentation de ses propriétés barrières que d'un facteur compris entre 2 et 10. Des recherches restent à mener notamment sur le **rôle du compatibilisant et sur l'amélioration des procédés de mise en œuvre**. Par ailleurs, les différents travaux ont jusqu'ici concerné les **barrières « passives »** utilisant l'effet de tortuosité. Une nouvelle approche pourrait s'intéresser à des **barrières « actives »** mettant en jeu des charges traitées, pouvant interagir avec les molécules concernées.

C'est dans la réalisation de **matériaux anti-feu**, notamment pour la limitation des risques après déclaration de l'incendie, que les nanocomposites polymères à charges lamellaires apparaissent avoir des applications très attrayantes. Les ignifugeants couramment utilisés aujourd'hui sont des produits à base d'halogènes et **certain ignifugeants bromés vont être prochainement interdits par la communauté européenne**. Les travaux effectués sur la dégradation et la combustion des polypropylènes et des copolymères éthylène/acétate de vinyle montrent bien que l'introduction de nanocharges lamellaires dans le polymère **modifie le processus de dégradation thermique et réduit la vitesse de combustion** ; globalement,

il y a une diminution importante de la vitesse de dégagement de chaleur, ce qui laisse supposer une réduction de la vitesse de propagation de l'incendie. Par ailleurs, l'effet barrière amené par la charge réduit la vitesse de diffusion des gaz issus de la décomposition au sein du matériau. En présence d'oxygène, on observe un ensemble de phénomènes favorables tels que la formation de phases carbonisées et la création d'une pellicule superficielle due à la recompaction des plaquettes. Cette « céramisation superficielle » fait barrière à l'oxygène et maintient le matériau plus longtemps en place au cours de la combustion.

Malgré tous ces effets très favorables et le fait qu'ils brûlent lentement, les nanocomposites ne passent pas aujourd'hui avec succès les tests UL. L'intégralité de leur surface brûle, sur une faible épaisseur, avant qu'ils ne s'éteignent. **Les nanocharges, utilisées seules, ne permettent donc pas d'ignifuger un matériau**. Cependant, en les associant avec des ignifugeants classiques, il est possible d'**améliorer les propriétés d'ignifugation** et le classement du matériau au test UL, tout en **diminuant la proportion d'ignifugeant**.

#### Table ronde : le point de vue des industriels et des universitaires. Conclusions

La table ronde a permis tout d'abord de dresser un bref historique sur la recherche dans le domaine des nanocomposites à partir de quelques chiffres clés concernant les publications et les brevets. Si les premières études sur la dispersion de plaquettes dans des matrices polymères remontent aux années 1950, le démarrage effectif des nanocomposites à charges lamellaires date des années 1990, avec le dépôt par Toyota en 1993 d'un brevet mentionnant les propriétés mécaniques, thermiques et barrières de ces nouveaux matériaux. Ce n'est que depuis 1998 que le nombre de publications et de brevets augmente de manière très importante pour atteindre 316 publications et 104 brevets en 2002 (contre respectivement 77 et 52 en 1998).

Plus de la moitié des publications concerne la montmorillonite. Parmi les 509 brevets déposés, le Japon est le premier déposant suivi par les États-Unis et l'Europe. Les matrices les plus citées sont le PA6, le PP, le PET, le PE et le PS. On notera que, tant du côté des brevets que des publications, l'Europe arrive en 3<sup>e</sup> position derrière la

Chine et les États-Unis (publications) ou le Japon et les États-Unis (brevets) et représente moins de 10 % du total des brevets déposés par ces deux pays. **Les participants ont souligné avec inquiétude l'étendue du retard européen traduit par ces chiffres et la tendance forte au déplacement vers l'Asie des indicateurs d'activités scientifiques utilisés dans l'analyse**.

Au cours des discussions, les participants, universitaires et industriels, ont exprimé leur point de vue sur les propriétés spécifiques et les perspectives offertes par ces nanocomposites. Une spécificité de ces matériaux chargés est la **taille des plaquettes d'argile**, qui est du même ordre de grandeur que celle des macromolécules. Le rôle des **interfaces** est fortement augmenté par rapport aux microcomposites, et cette particularité pourrait offrir la possibilité de faire de la chimie depuis la surface des nanofeuillets. Il s'avère que l'introduction de faibles quantités de ces charges lamellaires permet d'améliorer simultanément plusieurs propriétés, ce qui est assez remarquable et d'un grand intérêt potentiel pour les industriels. Le **recyclage** devrait également être plus facile que celui des composites courants et n'entraînerait pas de détérioration de la charge.

Des efforts de recherche importants doivent encore être consentis, en particulier pour comprendre tous les mécanismes de renforcement. Il est difficile aujourd'hui d'évaluer le taux d'exfoliation et de le relier directement aux propriétés. Une **approche pluridisciplinaire**, intégrant les connaissances et savoir-faire de la chimie inorganique et organométallique, paraît essentielle.

Si la **montmorillonite** est la charge la plus utilisée et la plus étudiée aujourd'hui, elle présente des limitations, dues en particulier aux impuretés. D'autres charges naturelles comme la stevensite, la saponite ou les hydrotalcites sont potentiellement intéressantes et mériteraient d'être examinées avec plus d'attention. Enfin, et surtout, il devient urgent de s'intéresser à des **charges exfoliables synthétiques** qui seront forcément mieux définies que les charges naturelles et pourront peut-être amener d'autres gains de propriétés grâce à la présence de groupements réactifs. Le problème de coût des composés synthétiques est certes limitatif par rapport à une charge naturelle brute ; il l'est beaucoup moins lorsque l'on prend en compte le traitement de la charge naturelle pour lui conférer les propriétés requises.

Il semble que la principale application actuelle pour les nanocomposites soit le **gainage de câbles électriques**. Dans cette application, les nanocharges sont utilisées en synergie avec des microcharges et permettent de réduire leur quantité et d'améliorer le compromis entre la tenue au feu et les propriétés mécaniques. Un certain nombre de sociétés proposent des produits commerciaux. Basell/GM, Nanocore, Ubbe et Honeywell ont été cités ; la société française Multibase a des produits en phase de développement. Actuellement, la production annuelle de ces nanocomposites est estimée à seulement quelques milliers de tonnes, principalement pour la câblerie et l'emballage. La production pourrait cependant atteindre **500 000 t/an** en 2010. Des **marchés de niche** ont été identifiés, notamment dans **l'ingénierie et la haute technologie**. Le profil de propriétés de ces composites permet une conception différente des pièces, avec par exemple une diminution des épaisseurs. Cependant, leur élaboration au niveau industriel semble assez difficile. Il y a peu de techniques qui

permettent une synthèse à grande échelle, notamment pour des taux de charges importants. Le procédé d'avenir semble être **l'élaboration *in situ* par voie directe en milieu fondu**.

D'une manière générale, si l'intérêt du concept a bien été vérifié, les résultats communiqués par les équipes de recherche et les industriels ne permettent pas de considérer que l'on ait abouti, avec les produits actuels, à des innovations de rupture. Le gain obtenu par l'utilisation des nanocomposites réside surtout dans **l'amélioration globale d'un profil de propriétés** (optimisation d'une propriété particulière sans dégrader les autres), ainsi que dans la **diminution de l'utilisation de certains produits à usage restreint** (tels les additifs halogénés anti-feu).

Il ne faut cependant pas perdre de vue qu'il s'agit de produits très récents et que ce domaine fait l'objet aujourd'hui d'une recherche extrêmement active. Des techniques de caractérisation nouvelles permettront certainement de mieux comprendre leur comportement et de mieux les qualifier. Enfin, de

nombreuses voies apparaissent pour accroître leurs performances et pallier leurs déficiences actuelles ; quelques années sont nécessaires pour les explorer et pouvoir porter un jugement pertinent sur l'intérêt réel du concept des nanocomposites polymères à charges lamellaires.

**Christelle Gallet,  
Jean-Claude Prévôt et  
Jean-Claude Daniel**

#### Contacts

- **Multibase** : ZI du Giers, 38380 Saint Laurent du Pont.  
Tél. : 04 76 67 12 12.  
Fax : 04 76 67 12 82.  
[www.multibase.com](http://www.multibase.com)
- **Basell/Général Motor**  
[www.basell.com](http://www.basell.com) / [www.GM.com](http://www.GM.com)
- **Ube Industries**  
Ube City, Japon.  
[www.ube-ind.co.jp](http://www.ube-ind.co.jp)
- **Nanocor**  
Arlington Heights, États-Unis.  
[www.nanocor.com](http://www.nanocor.com)
- **Honeywell**  
[www.honeywell-plastics.com](http://www.honeywell-plastics.com)

## Une organisation et une structure Recherche & Développement dédiées aux pathologies de la peau

# GALDERMA

R & D  
SOPHIA ANTIPOLIS



**150 familles de brevets et plus de 1 000 publications  
et communications scientifiques illustrent un processus  
d'innovation soutenu**

[www.galderma.com](http://www.galderma.com)



## Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers

Une Ecole en prise directe avec les préoccupations de notre société,  
en particulier par ses aspects formation et recherche axés sur

**l'Ingénierie de la Protection de l'Environnement.**

Créée en 1984, l'Ecole forme en effet des Ingénieurs dans cinq Spécialités :

- Automatique et Génie Electrique
- Eclairage - Acoustique - Climatisation
- Energétique Industrielle
- Matériaux de Construction - Géotechnique - Génie Civil
- Traitement des Eaux et des Nuisances

Directeur : Jean-Hugues THOMASSIN [jean-hugues.thomassin@esip.univ-poitiers.fr](mailto:jean-hugues.thomassin@esip.univ-poitiers.fr)

Directrice des études : Marie-Claude VEYSSIERE [marie-claude.veyssiere@esip.univ-poitiers.fr](mailto:marie-claude.veyssiere@esip.univ-poitiers.fr)

Service Scolarité : Christine PLANCHON [Scolarite@esip.univ-poitiers.fr](mailto:Scolarite@esip.univ-poitiers.fr)

Elle regroupe également 7 équipes ou laboratoires de recherche dont 3 directement impliqués dans les domaines de la chimie, de l'environnement et des matériaux, avec un effectif d'environ 40 permanents et 30 doctorants, post-doctorants et stagiaires :

### • Laboratoire de Catalyse en Chimie Organique. Equipe de l'UMR 6503.

**Secteurs d'activités** : Catalyse, Chimie de l'environnement et chimie fine

**Applications** : oxydation catalytique en phase gazeuse (gaz naturel, COV, plasma-catalyse), en phase aqueuse (dépollution des eaux), catalyse en chimie fine et utilisation d'agroressources (réactions multi-étapes) et préparation de catalyseurs multifonctionnels et hybrides.

*Courriel* : [joel.barrault@esip.univ-poitiers.fr](mailto:joel.barrault@esip.univ-poitiers.fr)

### • Laboratoire de Chimie de l'Eau et de l'Environnement. UMR 6008.

**Secteurs d'activités** : Chimie de l'eau, mécanismes et cinétiques d'oxydation en milieu aqueux, matières organiques naturelles (caractérisation et réactivité)

**Applications** : traitement des eaux potables (chloration, ozonation, sous-produits de désinfection) - dépollution d'effluents industriels par procédés avancés d'oxydation - maîtrise des biofilms dans les réseaux et circuits d'eau - devenir des pesticides dans l'environnement (hydrolyse, photolyse).

*Courriel* : [bernard.legube@esip.univ-poitiers.fr](mailto:bernard.legube@esip.univ-poitiers.fr)

### • Laboratoire Matériaux et Géologie Environnementale. Equipe de l'UMR 6532.

**Secteurs d'activités** : Altération et durabilité des matériaux, interactions eaux-roches, géomécanique, analogues naturels.

**Applications** : stockage de déchets, environnement.

*Courriel* : [jean-hugues.thomassin@esip.univ-poitiers.fr](mailto:jean-hugues.thomassin@esip.univ-poitiers.fr)



29 juillet-1<sup>er</sup> août 2003

### MC6

6<sup>th</sup> International conference  
on materials chemistry :  
frontiers and interfaces

Sheffield (Royaume-Uni)

• conferences@rsc.org  
www.rsc.org/lap/confs/mc6.htm

24-29 août 2003

### Solgel 2003

12<sup>th</sup> International workshop  
on sol-gel science and technology

Sydney (Australie)

• http://www.icms.com.au/sol-gel

24-29 août 2003

### ECB 11

11<sup>th</sup> European congress  
on biotechnology

Basel (Suisse)

• info@akm.ch  
www.ecb11.ch

1<sup>er</sup>-5 septembre 2003

### Euromat 2003

European congress on advanced  
materials and processes

Lausanne (Suisse)

• euromat@fems.org  
www.euromat2003.fems.org

10-14 septembre 2003

### ECME 2003

7<sup>th</sup> European conference  
on molecular electronics

Avignon

• ecme7@drecam.cea.fr  
http://www.drecam.cea.fr/spsci/ecme7/ecme2003.htm

15-19 septembre 2003

### TNT 2003

Trends in nanotechnology

Salamanque (Espagne)

• http://www.phantomsnet.com/TNT03

17-19 septembre 2003

### FRPM'03

9<sup>th</sup> European meeting on fire retar-  
dancy and protection of materials

Lille-Villeneuve d'Ascq

(*L'Act. Chim.*, août-sept. 2002, p. 86)

• frpm03@ensc-lille.fr  
http://www.ensc-lille.fr/actu/frpm/frpm03.html

**sfc**

17-20 septembre 2003

### IDS 3

3<sup>rd</sup> International dendrimer symposium

Berlin (Allemagne)

• tagungen@dechema.de  
http://www.dechema.de

21-25 septembre 2003

### ISPAC 19

19<sup>th</sup> International symposium on  
polycyclic aromatic compounds

Amsterdam (Pays-Bas)

• http://www.caos.nl/ispac19

21-26 septembre 2003

### JEPO 31

31<sup>e</sup> Journées d'études des polymères

Bouvines

• claudel@loucheux.com  
http://www.ensc-lille.fr/actu/jepo/jepo.html

21-26 septembre 2003

International symposium  
Chemistry and biology  
of marine organisms

Kolympari, Chania (Grèce)

• roussis@pharm.uoa.gr  
http://www.pharm.uoa.gr

21-26 septembre 2003

### ECIS 2003

17<sup>th</sup> Conference of the European  
Colloid and Interface Science Society

Florence (Italie)

• ecis2003@csgi.unifi.it  
http://www.csgi.unifi.it/ecis.html

23-25 septembre 2003

### EuroCoat 2003

International exhibition and  
congress for the paint, pigment,  
varnish, printing ink, glue  
and adhesive industries

Lyon

• info@idexpo.com  
http://www.idexpo.com

25-26 septembre 2003

### Biotech Nantes 2003

7<sup>e</sup> Carrefour européen  
des biotechnologies

Nantes

• contact@biotech-nantes.com  
http://www.biotech-nantes.com

29 septembre-1<sup>er</sup> octobre 2003

New developments in the  
formulation of dispersions

Manchester (Royaume-Uni)

• confsec@blueyonder.co.uk

6-11 octobre 2003

### Congrès annuel de la GDCh

Munich (Allemagne)

• jl2003@gdch.de  
http://www.gdch.de/tagung/5550/index.htm

13-15 octobre 2003

### SAJEC 2003

Symposium Sigma-Aldrich  
jeunes chimistes

Gujan-Mestras

Division Chimie organique

(*L'Act. Chim.*, avril-mai 2003, p. 150)

• http://sajec2003.free.fr

**sfc**

15 octobre 2003

### Fluor et énergie

Paris

• Bruno Ameduri. Tél. : 04 67 14 43 68.  
ameduri@enscm.fr

23-24 octobre 2003

Biodétérioration des matériaux  
VI<sup>e</sup> Forum du Cefracor

La Rochelle

• rsabot@univ-lr.fr  
http://www.univ-lr.fr/labo/emma/Bio/bio.htm

4-5 novembre 2003

Congrès annuel de la Société  
Française de Biochimie et  
Biologie Moléculaire  
Postgénomique : de la protéine aux  
molécules bioactives

Lyon-Gerland

• sfbm@cep.u-psud.fr  
http://www.ibcp.fr/SFBBM

3-4 décembre 2003

### Chimiométrie 2003

Paris

Groupe Chimiométrie

(*L'Act. Chim.*, juin 2003, p. 62)

Date limite de soumission :

5 septembre 2003.

• jgrolere@wanadoo.fr  
http://www.chimiometrie.org

**sfc**

## Divisions

### Chimie de coordination

#### Prix 2003 : appel à candidatures

Le prix 2003 sera décerné cette année à un « junior » âgé de moins de 39 ans à la **date limite d'envoi des candidatures fixée au 30 septembre 2003** (le cachet de la poste faisant foi). Les candidats nés avant le 30 septembre 1964 peuvent être présentés par leur directeur de laboratoire ou par un membre de la SFC de leur choix.

Le dossier de candidature devra être constitué d'une liste des brevets et publications parues ou définitivement acceptées et disponibles sur le web (ASAP), d'une liste des conférences invitées, d'une liste des communications orales et par affiche, d'un résumé des tâches effectuées d'intérêt collectif, d'un texte d'une page indiquant les contributions scientifiques les plus originales et d'une lettre motivée du présentateur. Il devra être adressé en même temps par e-mail et par courrier ordinaire à Didier Astruc, président de la division.

- Didier Astruc, Division Chimie de coordination de la SFC, LCOO, UMR 5802, Université Bordeaux I, 351 Cours de la Libération, 33405 Talence Cedex. [d.astruc@lcoo.u-bordeaux1.fr](mailto:d.astruc@lcoo.u-bordeaux1.fr)

### Chimie physique

12-15 octobre 2003

#### Nanopatterns and nanostructures at the interfaces

Joint meeting of the European societies of physical chemistry  
Mulhouse

Les nanostructures et nanosystèmes sur surfaces et interfaces ouvrent la voie à de nouvelles applications en optoélectronique, science des matériaux et biophysique. Ce colloque, particulièrement intéressant pour les spécialistes de nanogravures et nanostructurations, sera l'opportunité de présenter de nouvelles idées, d'échanger des expériences et de présenter l'état de l'art dans leur domaine spécifique.

Les thèmes suivants seront développés en cinq sessions qui donneront lieu à des discussions avec des spécialistes de chimie, physique ou biologie : *self organized nanostructures, chemical nanopatterning, nanoprinting, nanolithography, application of the functionalized nanostructures interfaces.*

- Carole Ecoffet. Tél. : 03 89 33 68 32.  
Fax : 03 89 33 68 95. [C.Ecoffet@uha.fr](mailto:C.Ecoffet@uha.fr)  
<http://www.dpg.uha.fr>

## Sections

### Languedoc-Roussillon

#### Nouveau bureau

Président : Marc Taillefer  
Vice-président : Jean-Claude Jumas  
Secrétaire : Christian Périgaud  
Trésorier : André Ayrat

- Marc Taillefer, ENSC de Montpellier, 8 rue de l'École Normale, 34296 Montpellier Cedex 5.  
Tél. : 04 67 14 43 52. [taillefe@cit.enscm.fr](mailto:taillefe@cit.enscm.fr)

### Rhône-Alpes

25 septembre 2003

#### Journée d'automne

Lyon

Au programme de cette journée qui se tiendra à l'ISTIL (Campus de la Doua, Villeurbanne) :

- *Application des liquides ioniques à la catalyse homogène : du laboratoire au procédé*, conférence plénière d'Hélène Olivier-Bourbigou (IFP) ;

- *Modification de la surface de polysaccharides cristallins. Obtention de nanocristaux de cellulose fonctionnalisés*, par Michel Vignon (CERMAV-CNRS, Grenoble) ;

- *Fonctionnalisation d'allylsilanes chiraux par voies électrophile et radicalaire*, par Yannick Landais (Laboratoire de chimie organique et organométallique, UMR-CNRS 5802, Talence) ;

- et des communications orales.

- A. Pierre. Tél. : 04 72 44 53 38.  
[apierre@catalyse.univ-lyon1.fr](mailto:apierre@catalyse.univ-lyon1.fr)

## Groupes

### Club Histoire de la chimie

11 octobre 2003

#### Réunion du club

Paris

Le club tiendra sa prochaine réunion conjointement avec la Société d'Histoire de la Pharmacie à 14 h à la Faculté de Pharmacie (4, avenue de l'Observatoire, Paris 5<sup>e</sup>), sur le thème : **Dictionnaires de chimie et dictionnaires de pharmacie.**

- [marika.blondel-megrelis@libertysurf.fr](mailto:marika.blondel-megrelis@libertysurf.fr)

## Parrainages

22 octobre 2003

#### 7<sup>e</sup> entretiens Physique-Industrie

La couleur : origines, perception et implications

Paris

Ces 7<sup>e</sup> entretiens sont organisés par la SFP, le CNISF et la SFC dans le cadre du salon Mesureexpo-Exposition de physique.

Le programme reprendra en partie les thèmes du Groupe de recherche CNRS « Couleur et matériaux à effets visuels » dans les domaines des couleurs naturelles et la production de couleurs artificielles, de la perception visuelle, des caractérisations de la couleur et des effets visuels, de l'art et de la création. Les applications industrielles (visualisation, photographie/cinéma/vidéo, peintures, mode, bâtiment, automobile, publicité...) seront discutées en tables rondes.

**Date limite de soumission :**

**10 octobre 2003.**

- J.-C. Mialocq, SFP, 33 rue Croulebarbe, 75013 Paris.  
[mialocq@drecam.saclay.cea.fr](mailto:mialocq@drecam.saclay.cea.fr)  
<http://sfp.in2p3.fr>

24-27 octobre 2003

#### 51<sup>e</sup> Journées nationales de l'Union des Physiciens

Au carrefour de l'Europe

Strasbourg

Ces journées de rencontres et d'échanges constituent pour les enseignants de physique-chimie l'occasion :

- de s'informer par le biais de conférences scientifiques, de visites de sites industriels et de laboratoires de recherche, de présentations de matériels ou de documents pédagogiques ;
- de confronter et de partager expériences et réflexions sur l'enseignement de la physique-chimie à l'occasion d'ateliers pédagogiques et lors de la séance plénière ;
- de rencontrer les acteurs de la recherche et de l'industrie ;
- et de s'ouvrir sur l'Europe puisque cette année de nombreux professeurs allemands et des enseignants suisses, hollandais et belges seront présents.

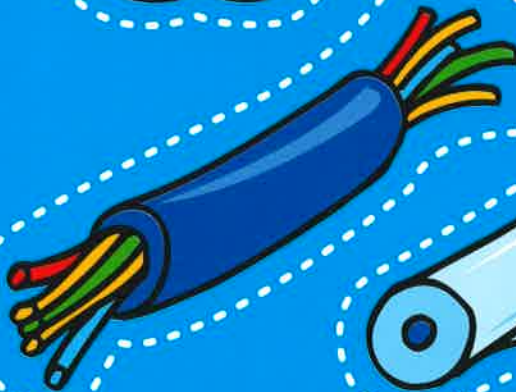
- <http://www.udpstrasbourg2003.org>

## Plis cachetés


La SFC a reçu le pli cacheté suivant (droits de garde 15 € par pli cacheté déposé) :


- Le 22 avril 2003, de S. Labidalle, D. Guyot, S. Barthélémy, J.-P. Tillement, D. Morin et B. Testa, enregistré sous le n° 382.


## An Evatane® cut-out just for you





Whatever your line of business, you'll find the solution you're looking for from our extensive EVATANE® product range. Our EVATANE® has been tried and tested successfully in many sectors.


 EVATANE® is extruded into films for food protection and greenhouse covers.

 EVATANE® is particularly suitable for the manufacture of semi conductors, cable sheathing, and halogen-free flame-retardant compounds.

 Easy-to-use EVATANE® strengthens bitumen whilst enhancing its flexibility and elasticity.

 EVATANE® is used in the manufacture of high performance hot melt adhesives for cardboard, packaging, industrial adhesives, bookbinding, and the wood industry.

 EVATANE® is used to produce tie-layers for complex films, for stretch films and food grade films, as well as thick films for the protection of surfaces and for pallet-wraps.

 EVATANE® is used in the manufacture of automotive sound-deadening parts.

EVATANE® are also used in many other applications. In addition to our EVA (Ethyl Vinyl Acetate) copolymer range, we produce EMA (Ethylene Methyl Acrylate) and EBA (Ethylene Butyl Acrylate) copolymers, as well as terpolymers (Ethylene Acrylate Maleic Anhydride and Ethylene Vinyl Acetate Maleic Anhydride).

For further information, please contact Eric Blandel by phone on 33 (01) 49 00 78 68 or by e-mail [eric.blandel@atofina.com](mailto:eric.blandel@atofina.com) or Vincent Crenna on 32 - 2 288 38 59 or by e-mail [vincent.crenna.@atofina.com](mailto:vincent.crenna.@atofina.com).

Varilux Panamic, les verres progressifs  
immédiatement confortables.



Dernière innovation de la gamme Varilux, les verres progressifs Varilux Panamic sont destinés à tous ceux qui ne voient plus aussi bien de près. Avec les verres progressifs Varilux Panamic, vous voyez précisément et instantanément à toutes les distances et jusque sur les côtés, en toute liberté.

Varilux progresse  
Vous aussi  
**VARILUX®**

