

# **l'actualité chimique**

Mensuel - Mai 2009 - N° 330

## **Pister les fraudes dans le miel**

## **Chimie et santé :**

L'apport des cryptates

Le bisphénol A au banc des accusés

Médicaments et processus de découverte



# Your Reliable Chemistry Partner



**AtlanChim Pharma is a CRO proposing a great expertise in chemical synthesis of complex molecules from milligram scale to hundreds of grams scale.**

## **A high-quality range of customized services**

- Research collaboration
- Custom-made fine chemicals
- Site-specific stable isotope labelling
- Biological validation of synthesized molecules

## **Our devotion, the entire satisfaction of our customers thanks to :**

- A team of 4 qualified and experienced PhDs
- 2 Scientific Directors, Pr Jacques Lebreton and Dr André Guingant
- A biology team (Atlantic Bone Screen company)



- An access to a full analytical park
- A fast and direct access to the scientific literature
- Suitable laboratory material for its researchers

ATLANCHIM PHARMA  
2 rue de la Houssinière  
44322 Nantes

Tel: +33(0)2 51 12 57 75  
Fax: +33(0)2 51 12 57 70  
contact@atlanchimpharma.com  
www.atlanchimpharma.com

## RÉDACTION

**Rédacteur en chef** : Paul Rigny  
**Rédactrice en chef adjointe** :  
 Séverine Bléneau-Serdel  
**Secrétaire de rédaction** : Roselyne Messal  
**Chef de rubrique, Collection « L'Actualité Chimique - Livres »** : Minh-Thu Dinh-Audouin  
**Webmestre** : Jérémie Meyer de Ville  
<http://www.etage-13.com>

## Comité des rubriques :

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

## Comité de rédaction :

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

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

Publication analysée ou indexée par :  
 Chemical Abstracts, base de données PASCAL

## ÉDITION

Société Chimique de France  
 250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris  
 Tél. : 01 40 46 71 64 - Fax : 01 40 46 71 61  
[redaction@lactualitechimique.org](mailto:redaction@lactualitechimique.org)  
<http://www.lactualitechimique.org>

**Directeur de la publication** : Olivier Homolle,  
 président de la Société Chimique de France

**Imprimerie** : SPEI, BP 26, 54425 Pulnoy  
**Maquette articles** : e-Press, Casablanca  
 Technopark, Route de Nouaceur, Casablanca (Maroc)

**Maquette hors articles** : Mag Design  
<http://www.magdesign.info>

ISSN 0151 9093

## PUBLICITÉ

EDIF, Le Clemenceau, 102 avenue Georges Clemenceau, 94700 Maisons-Alfort  
 Tél. : 01 43 53 64 00 - Fax : 01 43 53 48 00  
[edition@edif.fr](mailto:edition@edif.fr), <http://www.edif.fr>  
 Index des annonceurs : p. 1

© SCF 2009 - Tous droits réservés

Dépôt légal : mai 2009

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 2009 - L'ACTUALITÉ CHIMIQUE

(11 numéros par an)

**Particuliers** : France 95 € - Étranger 100 €

**Institutions** : France 195 € - Étranger 205 €

**Lycées** : France 110 € - Étranger 130 €

**Membres de la SCF (hors membres associés)** :

abonnement inclus dans la cotisation

**Abonnement** : SCF, Nadine Colliot  
 250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris  
 Tél. : 01 40 46 71 66 - Fax : 01 40 46 71 61  
[adhesion@scf.fr](mailto:adhesion@scf.fr)

Prix de vente au numéro : 20 € (port inclus)

## Éditorial 2

L'évaluation des chercheurs et des laboratoires : le piège, par **P. Rigny** 2

## Chroniques 3

### Communication de la chimie

Top models, par **R.-E. Eastes** 3

## À propos de 4

Le nitrate d'ammonium : un explosif « sûr ». Communiqué de la Fédération Française pour les sciences de la Chimie  
 Pénurie ou enfumage ?, par **J.-C. Bernier** 4  
 5

## Chimie des aliments et du goût 7

Pister les fraudes dans les miels : l'apport des microscopies et de la spectrométrie de masse du carbone 13, par **C.B.Y. Cordella** et **I. Moussa** 7

## Recherche et développement 14

La détection d'explosifs : état de l'art et développement de capteurs fluorescents performants, par **S. Clavaguera**, **F. Parret**, **C. Véron**, **P. Montméat**, **J.-P. Lère-Porte** et **L. Hairault** 14  
 Les cryptates et leurs applications au domaine de la santé, par **H. Bazin** 20  
 Étude et caractérisation du minéral plomb/zinc : essais d'enrichissement par flottation, par **L. Mahtout**, **D. Merabet** et **P. Gaudon** 28

## Industrie 31

Chimie et automobile, par **G. Schorsch** 31

## Enseignement et formation 34

Chimie de coordination des actinides : vers les frontières du tableau périodique, par **C. Den Auwer**, **P. Moisy** et **E. Simoni** 34  
**Les travaux pratiques**  
**Prix CNRS-division Enseignement-Formation 2008**  
 Synthèse parallèle basée sur la réaction multicomposants de Biginelli : une approche de la chimie verte, par **X. Bataille** et **E. Beauvineau** 42

## Sécurité et environnement 50

Le bisphénol A : une molécule au banc des accusés, par **R. Messal** 50  
 La mélamine : structure, toxicité et fraude, par **N. Lévy** 54

## Livres et médias 55

## Manifestation 57

Optimisation et sélection dans le processus de découverte des médicaments. Retour sur les 43<sup>e</sup> Rencontres internationales de chimie thérapeutique (Lille, 4-6 juillet 2007), par **T. Beghyn**, **N. Willand**, **R. Deprez-Poulain** et **Y. Rolland** 57

## Agenda 63

## Actualités de la SCF 64

### Index des annonceurs

AtlanChim Pharma	2 <sup>e</sup> de couv.	Sanofi-Aventis	p. 62
EDP Sciences	p. 41	UdPPC	4 <sup>e</sup> de couv.
Idenix Pharmaceuticals	p. 19		



## L'évaluation des chercheurs et des laboratoires : le piège

La façon dont on évalue les chercheurs et les laboratoires de recherche incarne la vraie nature du milieu, reflète sa culture profonde et la façonne en même temps. Obligeant à la mise à plat, au-delà des discours, des missions et des méthodes, elle constitue un piège pour qui voudrait jouer des ambiguïtés. Naguère fierté du CNRS, modèle de « l'évaluation par les pairs » à laquelle les chercheurs, avec de bons arguments, sont viscéralement attachés, le « Comité National » du CNRS (Centre national de la recherche scientifique) se voit, depuis la réforme de 2007, coiffé par l'AERES, l'Agence nationale d'évaluation de la recherche et de l'enseignement supérieur. Que s'est-il passé ? A-t-il démérité ? A-t-on trouvé de meilleures méthodes pour évaluer chercheurs et laboratoires ?

Pour illustrer la complexité de l'évaluation, posons simplement ces deux questions :

- Quel est le but de l'évaluation ? Veut-on évaluer le système de recherche français pour en obtenir les meilleurs résultats scientifiques ? Veut-on évaluer chaque individu pour le récompenser au mérite ?
- Selon quels critères évaluer ? Les mots sont empreints d'ambiguïté. Que veut dire « meilleurs résultats » ? Analyse des articles publiés ? Selon leur rayonnement ? Leur originalité ? Leur utilité par rapport au secteur appliqué ? Social ? Et que veut dire « mérite » ? Se juge-t-il « au résultat » ou « à l'effort », point délicat, si l'on songe qu'un chercheur est *de facto* aidé par l'équipe dans laquelle il travaille ? Or, cette ambiguïté, il n'est pas possible de simplement l'évacuer. Ce serait par exemple, attaché à la qualité d'abord, s'affirmer comme « élitiste » ou, attaché à l'équité d'abord, comme « démagogue »... qualificatifs polémiques. En fait, l'évaluation doit tenir un juste équilibre entre ces attitudes extrêmes. C'est pourquoi le « débat sur les critères » auquel se livrent les évaluateurs, pour important qu'il soit pour indiquer des orientations, reste toujours décevant : il ne donne pas de recette pour l'arbitrage des dossiers.

Le fonctionnement du Comité National a donné l'exemple de réponses pragmatiques satisfaisantes à ces questions, grâce à son excellente connaissance du milieu ; aussi, il faut le souligner, au fait que les évaluateurs soient, en forte proportion, des élus. Mais ce capital de connaissance, il était tentant de vouloir l'utiliser au-delà de l'évaluation pour apporter des éléments de politique scientifique, et il faut bien dire que le Comité National a rencontré là les limites qui lui ont tant nuit aux yeux des tutelles. Les commissions, qui

sont en charge d'une ou de quelques sous-communautés disciplinaires, s'en font automatiquement les « avocates ». Si elles déploient leurs efforts pour leur assurer le meilleur développement et font preuve d'une juste sévérité interne vis-à-vis de « leurs » personnels ou de « leurs » laboratoires, elles évitent trop souvent les recommandations stratégiques qui pourraient entraîner des décisions difficiles (fermetures de laboratoires, concentration de moyens sur des priorités...). Il en résulte un manque de réactivité – par rapport à l'interdisciplinarité, aux sous-disciplines émergentes, aux attentes nouvelles de la société concernant par exemple le positionnement par rapport aux acteurs socio-économiques – qui a fait qu'il a pâti d'une très regrettable réputation de conservatisme au cours des décennies précédentes.

Le Pacte pour la Recherche de 2007 a institué l'AERES, dotée des plus grandes responsabilités en matière d'évaluation. Ses équipes ont effectué déjà un travail conséquent – l'évaluation de plusieurs organismes de recherche et du quart des établissements universitaires –, travail suffisant pour que le milieu fasse connaissance avec cette nouvelle agence et... l'évalue. Pour l'heure, le moins qu'on puisse dire est que « l'entrée » de l'AERES est « ratée », au moins telle que perçue par le milieu des chercheurs. Le détestable recours aux « critères objectifs » (en fait des indicateurs de bibliométrie) se généraliserait, dont on sait qu'il est mortel pour la réflexion scientifique approfondie, la caricature des « visites de terrain » dans les laboratoires et des rapports qui les accompagnent, le furieux défaut de transparence sur les motivations des conclusions des évaluations... tout ceci nourrit une contestation qui s'étend parfois aux experts de l'agence eux-mêmes (sont-ils vraiment experts ? Travaillent-ils par intérêt, alors que les membres du Comité National sont bénévoles ?). Ces reproches, ces soupçons doivent être éradiqués : on ne peut concevoir que l'organisme expert soit contesté par le milieu de la recherche, pas plus, *mutatis mutandis*, qu'une démocratie pourrait ne pas respecter sa justice. La qualité du travail des évaluateurs doit être connue et reconnue, affirmée et comprise ; il faut que l'AERES explique ses méthodes, ses activités, les contraintes qu'elle se fixe, qu'elle n'élude pas les débats sur les critères, nécessaires pour qu'elle soit acceptée. Prise au piège des complexités de l'évaluation, l'AERES doit devenir exemplaire en matière de transparence : elle ne peut plus transiger sur cet objectif.

**Paul Rigny**  
Rédacteur en chef

## Top models...

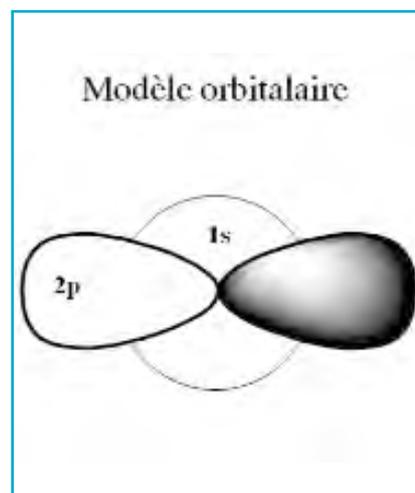
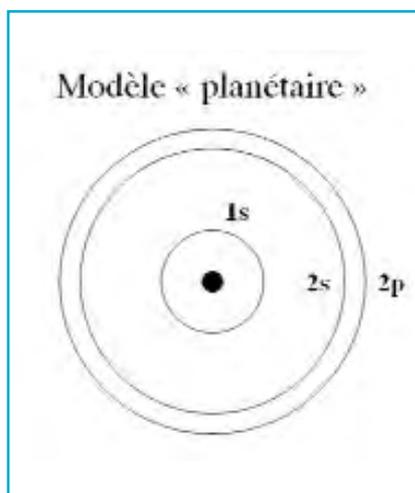
Dans notre dernière chronique<sup>(1)</sup>, nous analysons un défaut d'ordre didactique relativement fréquent en matière de communication de la chimie : la confusion dans l'emploi des notions de *molécule* et de *substance*. Pour l'illustrer, nous suggérons notamment qu'il était possible de formuler plus adroitement, et de manière moins ambiguë, la proposition : « *Les chimistes font réagir des molécules chimiques entre elles pour fabriquer de nouveaux matériaux.* » C'est ainsi que certains de nos lecteurs nous ont proposé, à juste raison, de remplacer l'emploi de *molécules chimiques* par des expressions telles que « substances réactives », « réactifs chimiques » ou « composés chimiques ».

Certains, au contraire plus sceptiques, nous ont rétorqué avec étonnement : « *Composé chimique et molécule ne sont-ils pourtant pas synonymes ?* » Nous répondrons par la négative, en leur faisant remarquer que les deux termes se placent à des niveaux de description totalement différents : 1/ les notions de composé moléculaire, de mélange, de substance, de propriété chimique, etc. sont macroscopiques et tangibles ; 2/ les notions d'atome, de molécule, de site actif, d'orbitale, de couche électronique, de charge partielle, etc. sont microscopiques<sup>(2)</sup> et le plus souvent abstraites.

Pourquoi les chimistes oublient-ils si facilement cette distinction ? Probablement parce qu'ils sont habitués à expliciter les propriétés macroscopiques de la matière par ses caractéristiques microscopiques, exercice dans lequel ils excellent d'ailleurs. Que l'on songe simplement aux pKa des acides organiques : parce que ce sont des grandeurs thermodynamiques macroscopiques, elles n'ont aucun sens au niveau moléculaire ; les chimistes en explicitent pourtant les différences et variations en comparant les structures des molécules correspondantes.

Non, composé chimique et molécule ne sont pas synonymes. Ils sont parents, ou homologues, mais dans des registres incommensurables, comme le sont le génotype et le phénotype d'un être vivant.

D'autres écueils du même type existent d'ailleurs dans le domaine de la



Différents modèles de l'atome.

De l'électron 1s et de l'électron 2p, lequel est le plus proche du noyau ?

communication de la chimie. Au-delà de l'incessante alternance entre les mondes du réel et de l'abstrait, le scientifique peut en effet être amené à utiliser simultanément différents modèles théoriques pour illustrer une même réalité<sup>(3)</sup>. Et de ce fait, son aisance et son habitude de jongler avec eux peuvent là encore l'amener à passer inconsidérément de l'un à l'autre, voire à les mélanger dans son discours. On verra ainsi très souvent, dans un même exposé, le modèle de Rutherford côtoyer des modèles quantiques de l'atome (*figure*), sans que le communicant ne prenne la peine de s'attarder (ou simplement de s'étonner) sur le fait que dans le premier modèle, les électrons qui possèdent l'énergie potentielle la plus élevée sont les plus éloignés du noyau, alors que cette règle est continuellement transgressée dans le second modèle.

Cette constatation est vraie pour les modèles, mais elle l'est aussi pour les représentations graphiques et schématiques. Des molécules organiques sont ainsi souvent représentées sur un même document selon des formalismes très variés, mais adaptés au propos du moment : formule « brute » pour la composition de la molécule,

formule « semi-développée plane » pour les groupes fonctionnels, formule « spatiale » en représentations de Cram, Newman ou Haworth pour la stéréochimie, formule « en bâtonnets » pour la structure électronique... Là encore, le manque de passerelles entre les différentes représentations est préjudiciable à la compréhension du non-chimiste.

Ou, pour reprendre la métaphore du langage du mois dernier, qu'il nous suffise de dire qu'il ne viendrait à l'idée de personne d'enseigner deux langues étrangères en même temps, en en mélangeant les outils (c'est-à-dire le vocabulaire) et les conditions d'utilisation (les règles de grammaire)...

**Richard-Emmanuel Eastes,**  
le 14 avril 2009

(1) Retrouvez l'intégralité de ces chroniques sur le blog *Parlez-vous chimie ?* ([www.parlezvouschimie.org](http://www.parlezvouschimie.org)).

(2) La notion de « corps pur », simple ou composé, est à cet égard particulièrement intéressante car elle fait le lien entre ces deux catégories. Elle désigne en effet une substance pure (macroscopique) tout en faisant référence à la nature des molécules (microscopiques) qui la composent.

(3) Eastes R.-E., Les pièges de la médiation scientifique – Propositions de « bonnes pratiques », *L'Act. Chim., Le chimiste et le profane : partager, dialoguer, communiquer, vulgariser, enseigner*, 2004, 280-281, p. 63.



Photo : S. Querbes

**Richard-Emmanuel Eastes** est agrégé de chimie, responsable du programme Communication-Éducation-Valorisation-Éthique du Département d'Études cognitives à l'École normale supérieure, Président de l'association Les Atomes Crochus et membre du Bureau de la Commission Chimie et Société.

# Le nitrate d'ammonium, un explosif « sûr »

## Communiqué de la Fédération Française pour les sciences de la Chimie

L'explosion de l'usine AZF (Azote Fertilisants) à Toulouse le 21 septembre 2001, créant un cratère de quarante mètres de diamètre et de sept mètres de profondeur à trois kilomètres du centre ville, a causé la mort de trente personnes et fait de très nombreuses victimes et de très importants dégâts matériels alentour. Cette catastrophe a provoqué beaucoup d'émotion et des questions de réactivité du nitrate se sont posées.

La Fédération Française pour les Sciences de la Chimie (FFC) nous communique ci-après un court résumé des propriétés du nitrate d'ammonium et son comportement particulier en présence de dichloroisocyanurate de sodium (hypothèse actuelle de la justice). Ces rappels techniques permettront à nos lecteurs de saisir toute la difficulté du procès qui s'est ouvert le 23 février dernier devant le tribunal de grande instance de Toulouse.



Le nitrate d'ammonium est un engrais abondamment utilisé. Ses propriétés explosives, sa décomposition thermique ou oxydante sont connues depuis très longtemps.

### Propriétés explosives

Le nitrate d'ammonium est un explosif « sûr », qui n'a jamais explosé spontanément. Il doit être amorcé par une autre substance explosive puissante et en quantité suffisante. Les conditions d'explosion sont sensibles au confinement (pression), au tassement, à la pureté, à la forme physique et à la température.

Lors de l'explosion, on forme des gaz simples : azote, oxygène et vapeur d'eau.

### Décomposition

#### Décomposition thermique

Le nitrate d'ammonium se décompose en produits chimiques intermédiaires (ammoniac, acide nitrique, oxydes d'azote...). Ces réactions sont fonction de la température et de la pression. Pris dans un incendie, le nitrate d'ammonium peut fondre, se décomposer et conduire à des explosions

à températures élevées ; mais la détonation n'intervient qu'après un temps long (plusieurs heures, voire plusieurs jours) et est précédée d'émission de vapeurs rouges (oxyde d'azote). C'est un cas fréquent d'accident [1].

#### Décomposition chimique

Le nitrate d'ammonium est sensible à certains produits chimiques qui peuvent soit le stabiliser (ammoniac, milieu basique...), soit le déstabiliser (catalyseurs métalliques, milieu acide ou des réducteurs tels que cellulose, amidon, sucre, fuel, essence...). Il donne ainsi lieu à de nombreuses réactions chimiques souvent équilibrées.

L'addition de ces produits chimiques conduit à une sensibilité à l'explosion plus ou moins grande que le nitrate d'ammonium seul. La sensibilité est augmentée par mélange intime des produits.

### Cas particulier du dichloroisocyanurate de sodium (DCCNa)

Le DCCNa est un produit stable qui en présence d'eau donne de l'acide hypochloreux (chlore « actif » désinfectant des piscines). Cet acide, en présence d'eau et en milieu acide, réagit avec le nitrate d'ammonium pour conduire à du trichlorure d'azote, produit explosif en milieu confiné [2-3].

Dans ce cas, il faut des conditions réactionnelles très spéciales pour atteindre l'explosion du nitrate d'ammonium qui, lui, demande un milieu sec (humidité < 5 %) et confiné.

Par ailleurs, comme pour l'explosion de Cherokee en 1973, l'analyse de la transmission de l'explosion entre des stockages de nitrates est difficile.

#### Note et références

- [1] Oxley J.C., *Thermochemica Acta*, **2002**, 384, p. 23.
- [2] Badeen C.M., *J. of Thermal Analysis and Calorimetry*, **2005**, 81, p. 225.
- [3] Paul J.-M., Hecquet G., Mieloszynski J.-L., Les chloroisocyanuriques : étude de leur aptitude à générer des chloramines par eux-mêmes ou en présence d'espèces azotées, *L'Act. Chim.*, **2004**, 274, p. 10.

# Pénurie ou enfumage ?

Jean-Claude Bernier

Il est couramment admis, et notamment depuis que l'on nous parle de crise, que la raréfaction des matières premières menace notre économie et le développement, même durable. En fait, au risque de se fâcher définitivement avec les prophètes de la décroissance, l'inévitable hausse des prix des matières premières, engendrée par leur raréfaction, est un scénario peu probable d'après les experts des marchés et ceux de la banque mondiale.

Regardons ce qu'il s'est passé depuis six mois : la bulle financière, dont on sait maintenant qu'elle était pour l'essentiel très spéculative et qui a entraîné dans son sillage la hausse de l'énergie puis celle des matières premières, est en passe de se dégonfler piteusement. Certes, elle jette la panique chez les banquiers – notamment américains – dépassés par les imprudences de leurs agents « prêteurs » et les jeux virtuels de leurs fringants « golden boys », mais elle remet aussi les fruits et bijoux de la nature à un plus juste prix. Ce jeu d'une espèce d'autorégulation est susceptible de relancer l'activité industrielle dans un environnement économique plus raisonnable.

Le *tableau I* donne quelques indications sur l'évolution de quelques matières premières. On remarque que ces matières minérales, qui sont essentielles au développement de l'immobilier et de l'automobile (Al, Fe, Ni), ou de l'électronique (Cu, Sn, Si qualité E), ont vraiment suivi la bulle financière jusqu'à la mi-2008 pour perdre ensuite en quelques mois de 50 à 60 % de leur valeur, dépréciation qui montre combien leur prix était artificiel et sans vrai rapport avec les ressources. Évidemment, les grands cartels miniers qui avaient finalement racheté leurs clients dans l'euphorie de la bulle sont appelés à souffrir et à réviser leurs appétits comme Rio Tinto qui annonce 14 000 licenciements dans le monde et souffre d'indigestion après avoir avalé Pechiney-Alcan.

Tableau I - Évolution du prix de quelques matières premières.

Métaux (\$/t)	2005	2006	2007	Juillet 2008	Déc. 2008	Variations 2008
Aluminium	2 000	2 400	2 800	3 300	1 850	- 44 %
Cuivre	3 150	5 400	5 400	8 800	3 200	- 64 %
Nickel	14 000	15 000	50 000	28 000	10 000	- 64 %
Silicium (\$/kg)	50	80	100	450	200	- 51 %
Étain	6 000	7 000	16 800	25 000	10 800	- 56 %

Quant au pétrole, principale source d'énergie fossile, matière première de la pétrochimie, où en est-on après le sommet de valeur en juin 2008 à 150 \$ le baril ? La « story » de l'or noir est résumée dans le *tableau II*.

La pétrochimie réagit moins vite et lisse partiellement ces évolutions qui sont plus calquées sur le prix du naphta. Le *tableau III* donne l'évolution de deux grands produits de la chimie : le polyéthylène (PE) et le polychlorure de vinyle (PVC).

Tableau II - Conséquences des chocs pétroliers sur le prix de « l'or noir ».

Historique	Évolution du prix du baril
1974 – 1 <sup>er</sup> choc pétrolier	3 \$ → 12 \$
1979 – 2 <sup>e</sup> choc pétrolier	12 \$ → 38 \$
1986 – Contre-choc pétrolier	30 \$ → 12 \$
1988-2000 – Période stable	20 \$
2002-2008 – 3 <sup>e</sup> choc pétrolier	20 \$ → 150 \$
06/2008-12/2008 – 2 <sup>e</sup> contre-choc pétrolier	150 \$ → 40 \$

Tableau III - Évolution du prix du polyéthylène (PE) et du polychlorure de vinyle (PVC).

Année	PVC (€/kg)	PE (HD) (€/kg)
1999	0,65	0,91
2000	0,79	1,09
2001	0,78	1,07
2002	0,76	1,07
2003	0,78	1,14
2004	0,93	1,26
2005	0,98	1,45
2006	1,07	1,60
2007	1,13	1,67
07/2008	1,25 Δ 00-08 : + 90 %	2,03 Δ 00-08 : + 100 %
12/2008	1,09 Δ 08 : - 12 %	1,19 Δ 08 : - 41 %

On se rappellera, et on rappelle pour les jeunes générations, que les chocs pétroliers des années 1974 et 1979 étaient dus essentiellement à l'action politique des pays producteurs qui prenaient conscience de l'immense richesse de leur sous-sol et se libéraient de la tutelle des pays colonisateurs européens ou des grands groupes pétroliers, et ne s'appuyaient nullement sur une raréfaction du produit puisque les réserves prouvées atteignaient déjà quarante années.

Le 3<sup>e</sup> choc pétrolier qui s'est étalé sur plusieurs années aura eu au moins un côté positif : celui de faire prendre conscience du prix de l'énergie, même s'il était basé sur une toute autre cause spéculative. Au moins, la consommation mondiale de pétrole a baissé deux années de suite et l'on prévoit en 2009 une baisse de la consommation de l'ordre de 450 000 barils/jour. Gageons que les pays de l'OPEP sauront ajuster leur production pour compenser cette baisse.

Pour la pétrochimie, la période a pratiquement conduit au doublement du prix du PVC en dix ans et un peu plus pour le PE jusqu'en juillet 2008 (alors que le prix du baril avait été multiplié par 7 !). En six mois cependant, ces produits

essentiels pour les plastiques ont perdu respectivement 12 et 40 %, baisses qui devraient redonner une bonne impulsion aux industries de transformation.

En fait, il faudrait trouver un point d'équilibre (politique et économique) pour le prix du baril entre 50 et 75 \$. Il est en effet important que le second contre-choc pétrolier ne soit pas d'un aussi bas niveau que le premier, car il a empêché pendant plus de dix ans un développement économique raisonnable des énergies alternatives dites renouvelables comme le photovoltaïque, sauf de celui du nucléaire dont la France ne peut que se féliciter.

L'évolution du prix du silicium photovoltaïque est à ce sujet intéressant : lorsque le prix du baril a dépassé 50 \$, l'industrie des panneaux photovoltaïques à cellules de silicium s'est accélérée, passant de même pas 1 GWh installé en 2000 pour monter à 5,7 GWh en 2008, avec des prévisions à 19 GWh pour 2010. Le silicium est le composé le plus abondant à la surface terrestre, on ne craint donc pas la pénurie, mais son extraction et sa purification sont très coûteuses ; la consommation de silicium pour le photovoltaïque a dépassé celle du silicium électronique en 2006 et le prix a suivi (tableau IV). Avec l'inflation du prix, de nombreux opérateurs se sont lancés dans des investissements de production de silicium et de cellules. Si on comptait neuf majeurs dans les années 2000, on en compte plus de soixante en 2008, et la production va doubler en 2009, alors que la demande ne va pas dépasser une augmentation de 30 %. Même si le prix du silicium s'effondre, mais à condition que le prix du pétrole ré-augmente, nous serons alors en surcapacité, avec une diminution intéressante du prix des panneaux solaires.

Tableau IV - Évolution du prix du silicium pour le photovoltaïque.

Année	2000	2004	2007	Juin 2008	Déc. 2008	2009
Prix Si/kg	9 \$	30 \$	100 \$	450 \$	200 \$	100 \$

Peut-on alors penser à une autorégulation des marchés des matières premières et de leurs produits de transformation, par opposition à la dérégulation des marchés

financiers ? De celle de l'économie vraie qui crée des produits et de la valeur ajoutée par transformation et non pas celle virtuelle des traders sur écran ? Peut-être, mais elles sont évidemment liées. Les états du Moyen-Orient et les pays producteurs, riches de leur sous-sol et des pétrodollars, peu enclins à communiquer sur leurs réserves non encore prouvées, timides à escient sur les investissements modernes d'extraction et de production, avaient tout intérêt à préserver les ressources et à amasser les dollars avec un baril qui avait triplé son prix en deux ans. Mais parallèlement, les pétrodollars

placés dans la chimie, la sidérurgie, les transports, les télécoms... commençaient à souffrir de la récession qu'engendraient les prix astronomiques des ressources ; les consommateurs s'épuisent, les marchés chutent et la rentabilité des placements s'effrite. À un moment, les pertes subies en aval ne justifient plus les bénéfiques en amont, et la raison reprend ses droits.

Pénurie ? Raréfaction ? Il semble que pour les matières premières minérales, le problème ne soit pas encore d'actualité ; pour les combustibles fossiles, l'échéance est sans doute plus proche et chiffrée par les experts suivant leur nature – pétrole, gaz, charbon – entre 40 et 200 ans. Ce qui par contre est certain, c'est le manque et la pénurie de terres cultivables et de bases alimentaires pour nourrir une population mondiale qui va atteindre neuf milliards d'individus en ce XXI<sup>e</sup> siècle et là, le problème est d'actualité et plus présent, comme l'est l'augmentation préoccupante de la teneur en gaz à effet de serre dans notre atmosphère, qui nous incite à économiser l'énergie et à recycler au mieux les produits manufacturés dans des conditions économiques raisonnables.

Jean-Claude Bernier,  
vice-président de la SCF



SERI  
SALON EUROPÉEN  
DE LA RECHERCHE  
& DE L'INNOVATION

3 > 5 JUNE 2009  
VIPARIS  
PAVILLON 5

EXHIBITION & CONGRESS  
SHE'S | SAIS' FOCUS

www.seri.info

Rendez-vous au Salon européen de la recherche et de l'innovation

Les portes du 5<sup>e</sup> SERI s'ouvriront bientôt à Paris, avec pour objectif de réunir tous les acteurs de la recherche pendant trois jours.

En quatre ans, ce salon est devenu un lieu privilégié unique en Europe, carrefour annuel d'échanges pour l'ensemble des acteurs de la recherche européenne, et joue un rôle de maillage qui favorise le développement de projets publics et privés. L'année dernière, cette vitrine de ce qui se fait en France et en Europe en matière de recherche a attiré plus de 25 000 visiteurs.

Parmi les exposants, on retrouve les grandes institutions de la recherche, des entreprises industrielles et de service (notamment pour l'aide au financement de projets novateurs), des PME/PME et start-up, des collectivités territoriales, les grandes écoles et universités, les pôles de compétitivité, la presse scientifique... Ainsi, on pourra rencontrer la Société Chimique de France, le CNRS, l'Ademe, le CEA, Cosmetic Valley, Saint-Gobain, Solvay, Pour la Science, EDP Sciences..., ou encore l'APEC et l'Association Bernard Gregory pour les rendez-vous de l'emploi.

Au programme aussi, une série de conférences proposée par le Comité scientifique présidé par l'astrophysicien Jean Audouze, occasion pour le visiteur d'une réflexion sur le rôle joué par la recherche et l'innovation autour de nombreux thèmes d'actualité.

Invité d'honneur cette année : le Portugal, dont la recherche, en retard sur la moyenne européenne, est devenue une priorité nationale depuis trois ans.

• Paris, 3-5 juin 2009, inscription gratuite sur le site : [www.seri.info](http://www.seri.info)

# Pister les fraudes dans les miels

L'apport des microscopies et de la spectrométrie de masse du carbone 13

Christophe B.Y. Cordella et Issam Moussa

## Résumé

Cet article présente une étude utilisant deux types de microscopies et la spectrométrie de masse du carbone 13 (SMRI- $^{13}\text{C}$ ) pour mettre en évidence l'adultération de miels par des sirops de sucre industriels. Il décrit l'une des approches possibles pour détecter les fraudes dans les miels par des méthodes simples consistant à rechercher des traceurs spécifiques (cellulaires ou moléculaires). La microscopie optique se révèle plus sensible que la SMRI pour détecter la fraude (respectivement de l'ordre de 2 et 7-10 %). Alors que la microscopie optique est limitée à la recherche d'éléments cellulaires de l'adultération et que la SMRI donne ses meilleurs résultats pour un certain type de sirops industriels, nous avons mis en évidence les possibilités de la microscopie électronique dans la détection de sirops ne possédant pas de traceur cellulaire. Cette extension intéressante se fait par le biais de l'étude morphométrique des grains d'amidon éventuellement présents dans les échantillons.

## Mots-clés

**Miel, fraude, microscopie optique, MEB, spectrométrie de masse, carbone 13, traceurs.**

## Abstract

**Identification of fraud in honey: the use of microscopies and mass spectrometry of 13-carbon**

This article presents a study using two types of microscopy techniques and the mass spectrometry of 13-carbon ( $^{13}\text{C}$ -IRMS) to identify the adulteration of honey by industrial sugar syrups. We present here an approach to detect fraud in honey by simple methods, that consist in seeking tracers (cellular or molecular) of the specific adulteration. We show that optical microscopy is more sensitive than the IRMS to detect fraud (by about 2% and 7-10%). While optical microscopy is limited to the search for cellular elements of adulteration and IRMS gives its best results for a certain type of industrial syrups, we have highlighted the possibilities of electron microscopy in the detection of industrial syrups with no tracer cell. This extension is interesting through the morphometric study of starch grains if present in the samples.

## Keywords

**Honey, fraud, optical microscopy, SEM, mass spectrometry, carbon-13, tracers.**



La qualité nutritionnelle et organoleptique des aliments est un vaste sujet puisqu'il commence sur le terrain par le suivi et le soutien scientifique et technique des filières de production (élevages, agriculture...) et se poursuit jusqu'au produit fini que nous retrouvons dans notre assiette. Le problème posé ici est celui de « l'adultération des miels par les sucres exogènes », sujet délicat car il suscite un engouement important de la filière professionnelle apicole. Soucieuse de préserver la qualité et l'image de ses produits et notamment du miel, archétype du « produit de terroir » 100 % naturel, elle s'est adressée à l'administration européenne puis à l'AFSSA afin que des solutions lui soient

proposées et que l'on puisse notamment détecter les mélanges de sirops industriels vendus sous l'appellation de miel.

La falsification n'étant pas une pratique spécifique à la filière apicole, cette recherche a été développée avec le souci d'élargir le champ de la synthèse à d'autres produits alimentaires et d'évaluer les différentes solutions techniques dont nous disposons pour répondre au problème [1].

Les études ont été organisées principalement autour de deux approches analytiques opposées et complémentaires dépendant de la manière dont l'échantillon est analysé et impliquant une forme adaptée de traitement des données. Il s'agit d'une part, de ce qu'il convient d'appeler une approche chimique spécifique, et d'autre part, d'une approche physique globale. La chronologie des travaux effectués a fait intervenir cinq techniques différentes : la microscopie optique (MO) et électronique à balayage (MEB), la spectrométrie de masse des rapports isotopiques (SMRI), la calorimétrie différentielle à balayage (DSC ou « *differential scanning calorimetry* ») et la chromatographie ionique à ampérométrie pulsée (HPAEC-PAD).

Nous présentons ici les travaux effectués en microscopie optique et électronique ainsi qu'en spectrométrie de masse du carbone 13 (SMRI- $^{13}\text{C}$ ) [1]. Les principes et les applications de la DSC et de la HPAEC-PAD feront l'objet d'un autre article. Il n'est jamais inutile de montrer l'intérêt et la richesse des collaborations scientifiques transversales entre laboratoires et équipes de recherche (surtout par les temps qui courent), puisse cet article y contribuer à sa façon.

## L'adultération du miel : un problème vieux comme le monde

À l'instar des problèmes d'intoxication (naturels ou non) de l'abeille qui ne datent pas d'hier [2], celui de l'adultération des miels est lui aussi très ancien puisqu'à l'époque romaine, Plaine l'Ancien<sup>(1)</sup> parlait déjà du miel comme d'une substance divine aux propriétés merveilleuses, mais que « [...] *la fraude de l'homme falsifie et perd toute chose* » [3]. Au XVIII<sup>e</sup> siècle, Sir John Hill [4] alertait ses contemporains de certaines pratiques consistant à incorporer au miel diverses substances telles que la paraffine, le glucose, le saccharose, le malt... De nos jours, malgré les efforts importants engagés dans les analyses physico-chimiques, la détection et la quantification de l'adultération des miels restent des problèmes difficiles. Même avec l'adoption de normes internationales<sup>(2)</sup>, les fraudes sur les appellations et l'authenticité des miels restent une préoccupation actuelle.

Le contrôle de l'adultération des miels exige une très bonne connaissance du produit. Il peut emprunter deux voies souvent complémentaires : la caractérisation du produit pour en connaître les constituants chimiques et mettre en évidence de fortes variations de ceux-ci et la recherche et l'identification d'anomalies constitutives (traceurs cellulaires ou moléculaires). La première voie donne un point de vue global de l'échantillon tandis que la seconde se rapproche d'une démarche « à la Sherlock Holmes », et donne une information plus locale ou spécifique de la fraude.

Chaque miel emprunte certaines caractéristiques organoleptiques de la plante butinée par l'abeille (lavande, acacia, pin...), avec un goût, une texture, un arôme, une couleur, etc. qui lui sont propres. Les constituants chimiques et biologiques du miel sont nombreux : glucides, eau, protéines, acides aminés, acides organiques, polyphénols, ... pollens, levures, bactéries... Parmi ces éléments, on trouve parfois des grains d'amidon. Les pages qui suivent visent à montrer que deux options efficaces de contrôle analytique sont possibles pour détecter l'adultération des miels. La première consiste à rechercher des traceurs cellulaires (microscopie optique) ou des traceurs moléculaires (microscopie électronique). La seconde se base sur la détermination et la mesure d'une propriété naturelle de l'échantillon : son contenu isotopique en carbone 13, et sur le calcul du rapport  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ .

### L'amidon : l'indice à suivre...

L'amidon est constitué pour 20-30 % d'amylose (polymère naturel d'unités de D-glucose) et pour 70-80 % d'amylopectine (également un polymère naturel de D-glucose mais dont l'arrangement spatial et l'enchaînement des unités diffèrent). Il est l'homologue végétal du glycogène, macromolécule naturelle permettant le stockage de l'énergie et de la brique nutritive de base – le glucose – dans la cellule. L'amidon est la structure carbohydrate la plus répandue et la plus abondante dans les plantes. Dans la nature, il est presque toujours sous forme de granules (grains d'amidon). Dépendants de l'origine de la plante et de sa maturité, les grains d'amidon varient beaucoup dans leur forme, leur taille et leur température de gélatinisation ainsi que l'illustre le *tableau I*. La forme et la taille de ses granules sont caractéristiques de leur plante d'origine et un microscopiste expérimenté peut facilement le déterminer [5-6].

Tableau I - Caractéristiques morphologiques et physiques de quelques-uns des principaux grains d'amidon.

Valeur entre parenthèses : moyenne en  $\mu\text{m}$ . Selon [7].

Source	Taille ( $\mu\text{m}$ )	Température de gélatinisation ( $^{\circ}\text{C}$ )
Maïs	4-26 (15)	64-71
Pomme de terre blanche	15-100 (33)	62-68
Pomme de terre à sucre	15-55 (37)	82-83
Tapioca	5-36 (21)	69-70
Blé	2-38 (20)	53-64
Riz	3-9 (5)	65-73
Canne	--- (43)	—

Observés par microscopie optique sous lumière polarisée, les grains d'amidon présentent un motif d'interférence caractéristique : la *croix maltaise* qui est toujours observable quelle que soit l'origine de l'amidon<sup>(3)</sup>. Elle peut cependant disparaître partiellement lorsque l'amidon subit des transformations dues à un traitement thermique (gélatinisation) ou à des réactions chimiques ou enzymatiques.

L'amidon n'est pas considéré comme un élément constitutif naturel du miel. Cependant, dans la pratique, des traces d'amidon y sont tolérées. La quantification ou le dénombrement des grains d'amidon se fait par rapport aux pollens. Généralement, un échantillon de miel est considéré conforme lorsque la quantité d'amidon ne dépasse pas un à quatre grains pour cent pollens. Différentes études confirment la légitimité de cette tolérance vis-à-vis des miels. Lobreau-Callen et Clément définissent les miels « sales » comme ceux qui présentent toutes sortes de débris minéraux (argiles, cristaux, terre, loess) ou organiques (épidermes, amidon), preuves d'une adultération de nature physico-chimique [8]. Dans leurs travaux, Franchi *et al.* montrent que la plupart des plantes visitées par les insectes pollinisateurs tels que l'abeille appartiennent à des familles botaniques bien définies<sup>(4)</sup> qui regroupent des plantes nectarifères et non nectarifères, dont le point commun est d'avoir peu ou pas d'amidon dans leurs pollens [9]. En effet, pour ces plantes, les pollens sont dépourvus de réserves en carbohydrate alors que d'autres parties de ces végétaux en contiennent. Par ailleurs, de nombreux auteurs ont montré que le nectar des plantes visitées par l'abeille est une substance aqueuse composée essentiellement de glucose, de fructose et de saccharose [10]. Les nectars ne contiennent donc pas de sucres supérieurs et certainement pas de polymères des sucres tels que l'amidon.

*A contrario*, des plantes telles que la canne à sucre, la betterave, le riz, le blé, le maïs, la pomme de terre... contiennent une grande quantité d'amidon qui représente leur principale forme de stockage du sucre. Or ces plantes étant utilisées, partiellement ou dans leur totalité, comme matière première dans la fabrication des sirops de sucre industriels (notamment la betterave sucrière, le maïs et la canne à sucre), on retrouve inévitablement de nombreux grains d'amidon dans ces sirops.

Ainsi, concernant l'aspect « amidon » dans les miels, il est maintenant plus clair que cet élément n'est pas gage de qualité et qu'une attention particulière doit lui être accordée car ce peut être un moyen de dépistage de l'adultération par les sirops de sucre issus ou non de l'hydrolyse (toujours plus ou moins totale) de l'amidon.

## Microscopie optique et spectrométrie de masse du carbone 13 : comparaison des méthodes

### Échantillons

Afin de cibler les miels où les fraudes par ajout de sucres exogènes ont été le plus souvent décrites, 43 échantillons ont été prélevés dans le circuit de la grande distribution. La méthode appliquée pour préparer les lames est celle de l'analyse pollinique des miels [11] et nous nous sommes inspirés des travaux de Kerkvliet *et al.* [12] pour la mise en évidence de l'adultération. L'examen microscopique se fait en lumière blanche et polarisée.

### Microscopie optique

La microscopie optique permet de détecter facilement la présence de fragments cellulaires (fibres, cellules épidermiques, anneaux scléreux) originaires de la canne à sucre. La *figure 1* montre le spectre pollinique normal d'un miel, c'est-à-dire ne présentant que des cellules polliniques en nombre et de morphologie attendus. Sur la *figure 2*, on peut voir un anneau scléreux caractéristique d'une adultération par un sirop de canne à sucre ou un produit dérivé de la canne à sucre. La méthode employée consiste à adopter un raisonnement binaire dans la lecture et l'interprétation des échantillons [13]. En effet, nous avons considéré, après la lecture de deux lames par échantillon, que l'échantillon était déclaré positif lorsqu'au moins un anneau scléreux était observé sur les deux lames, ou de façon plus générale, lorsqu'au moins un élément cellulaire caractéristique de la canne à sucre y était présent. En revanche, tous les échantillons ne présentant aucun élément cellulaire douteux ont été déclarés négatifs, c'est-à-dire conformes du point de vue de l'adultération par des produits dérivés de la canne à sucre.

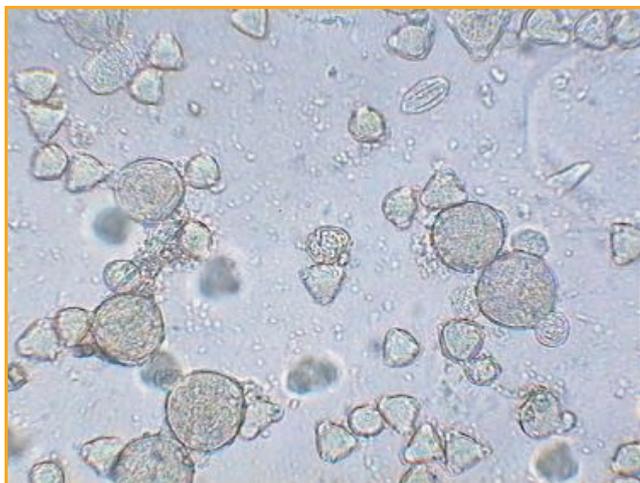


Figure 1 - Cliché de microscopie optique d'un miel de lavande non frelaté.

Microscope Carl Zeiss Axiostar en lumière blanche, oculaire A-Plan 20x/0,45, grossissement x200.

### Spectrométrie de masse : mesure du rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

La spectrométrie de masse du carbone 13, dite SMRI, a longtemps été la technique officielle pour détecter la falsification des produits alimentaires. Les travaux pionniers dans ce domaine ont été présentés par White et Doner, qui proposèrent une méthode pour détecter d'éventuelles additions de sirops industriels, issus de plantes de type C4, dans les produits alimentaires et en particulier dans les

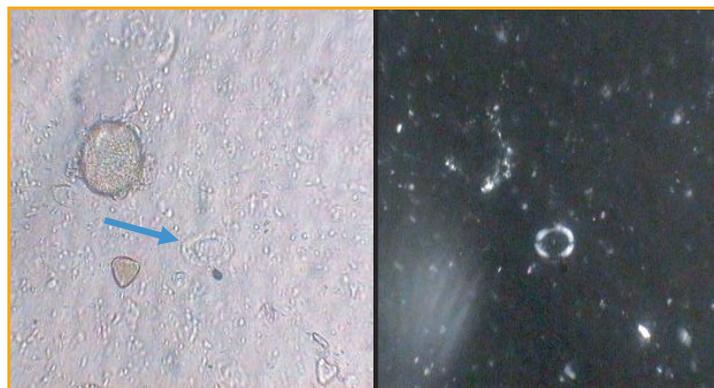


Figure 2 - Clichés de microscopie optique d'un miel de lavande présentant un anneau scléreux (cellule issue de la canne à sucre).

Microscope Carl Zeiss Axiostar en lumière blanche à gauche et en lumière polarisée à droite, oculaire A-Plan 20x/0,45, grossissement x200. Taille de l'anneau : 36 x 24  $\mu\text{m}$ .

miels [14]. Comment cela est-il possible ? Lors de la photosynthèse, l'assimilation du gaz carbonique par les végétaux s'effectue selon deux principaux types de métabolismes qui sont les métabolismes C3 (cycle de Calvin) et C4 (Hatch et Slack). Ces deux mécanismes de photosynthèse présentent un fractionnement isotopique différent. Ainsi, les produits issus des plantes C4, tels que les sucres et l'alcool dérivé par fermentation, présentent des teneurs en carbone 13 plus élevées que celles de leurs homologues provenant des plantes C3. La plupart des végétaux tels que la vigne et la betterave appartiennent au groupe C3. La canne à sucre et le maïs appartiennent au groupe C4. Ainsi, la mesure de la teneur en carbone 13 permet de détecter et quantifier le sucre d'origine C4 (sucre de canne ou isoglucose de maïs) ajouté aux produits dérivés du raisin (moûts de raisins, vins...) ou au miel.

Le principe de la SMRI consiste à mesurer le rapport isotopique d'un analyte transformé en un gaz simple, représentant isotopiquement de l'échantillon initial, avant d'entrer dans la source d'ions du spectromètre. Le système peut mesurer différents rapports isotopiques ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  et  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ ) en continu respectivement sur des gaz de  $\text{H}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$  et  $\text{SO}_2$ . Dans le cas du carbone, le rapport  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  est naturellement constant dans tous les produits biologiques, mais peut varier d'une source de carbone à l'autre ( $\text{CO}_2$  de l'atmosphère, plantes C3 et C4, carbone des animaux, etc.). Il est donc facile de détecter si une de ces différentes sources a été mélangée à une autre car la proportion  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  dans le produit aura changé par rapport à celle du produit naturel. Pour plus de détails théoriques et pratiques, le lecteur est encouragé à lire Meier-Augenstein [15], qui présente tous les aspects de l'utilisation du système SMRI, détaillant la préparation de l'échantillon, la dérivation, l'étalonnage isotopique, etc., et donne des exemples de nombreuses applications sur les arômes et parfums, vins, jus de fruits, huiles végétales et miels avec plus de 160 références.

Le critère isotopique final, appelé  $\delta$  (delta), calculé et utilisé pour déterminer la conformité des échantillons, prend en compte le rapport isotopique  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  des sucres du miel ainsi que les rapports isotopiques  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  des protéines du miel :

$$\delta(^{13}\text{C}/^{12}\text{C}) = (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{protéines}} - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{miel}}$$

Les articles de référence dans ce domaine sont ceux de White, Winters, et Martin [14, 16], à la fois pour la méthode

initiale de développement ( $\delta^{13}\text{C}$  mesurés sur des miels) et la mise au point de la méthode améliorée (méthode du standard interne : mesure de  $\delta^{13}\text{C}$  sur le miel et ses protéines).

### Comparaison microscopie optique/SMRI

Nous avons montré dans notre étude que la microscopie est beaucoup plus sensible que la SMRI. À l'instar de la SMRI, la microscopie optique est spécifique des sirops de canne à sucre. Cependant, la SMRI est applicable à l'ensemble des sirops dits de type C4. Le temps nécessaire pour réaliser une analyse microscopique est inférieur à celui nécessaire à la mise en œuvre de la SMRI car cette dernière fait notamment intervenir une étape de combustion de la matière organique dans un microanalyseur à combustion (figure 3). Mais il est vrai que l'utilisation de la microscopie en routine n'est pas mécanisable. En revanche, les deux techniques nécessitent une lecture experte. L'analyse microscopique requiert une certaine habitude dans la lecture de la lame de verre sur laquelle est réalisé le dépôt de l'échantillon pour la reconnaissance des éléments figurés microscopiques observés, tandis que la SMRI nécessite un spécialiste de l'utilisation d'un tel spectromètre de masse.

Il reste que lorsque les conditions d'expertise sont réunies, l'analyse microscopique affiche une sensibilité de l'ordre de 2 % alors qu'elle est de 7 à 10 % pour la SMRI<sup>(5)</sup>. Le tableau II présente à titre d'exemple une partie des résultats obtenus



Figure 3 - Spectromètre de masse pour la détermination des rapports isotopiques des sucres et des protéines dans le miel.

Finnigan MAT 253 avec introduction DUAL INLET (avec l'aimable autorisation de J. Savarino, Laboratoire de glaciologie et géophysique de l'environnement, CNRS/UJF).

sur les échantillons analysés : 14 échantillons sur 43 ont été détectés et classés comme adultérés par la SMRI, soit 32,5 % sur l'ensemble des échantillons analysés, tandis que la microscopie en détecte 17 sur 43, soit 39,5 %. La comparaison des performances des deux techniques échantillon à échantillon indique un accord de 85,7 % pour les miels adultérés et 82,8 % pour les miels conformes. Par ailleurs, la SMRI détecte deux échantillons adultérés que la microscopie ne met pas en évidence. Cette différence peut être due soit à une inhomogénéité du prélèvement de miel, soit au fait que le sirop utilisé n'a pas pour origine la canne à sucre. Enfin, la microscopie met en évidence cinq échantillons adultérés pour lesquels la SMRI a été insensible. Aucune explication concernant la préparation de ces échantillons ou leurs caractéristiques physico-chimiques n'ont pu être avancées, indiquant par conséquent une sensibilité supérieure de la microscopie par rapport à la SMRI.

### Microscopie électronique

Le pouvoir séparateur d'un microscope optique (photonique) est limité par la longueur d'onde de la lumière visible. Aucun détail inférieur à 0,2  $\mu\text{m}$  ne peut être observé et seule l'utilisation de particules accélérées de plus courte longueur d'onde permet d'augmenter le grossissement. C'est le principe utilisé par la microscopie électronique à balayage (MEB). Imaginée pour la première fois dans les années 30 par Knoll [17] et von Ardenne [18-19], puis développée par Zworykin, Hillier et Snyder [20] dans les laboratoires RCA aux États-Unis dans les années 40, la MEB prend son essor entre 1948 et 1965 grâce aux progrès techniques de la télévision et des détecteurs d'électrons. Dans ce domaine, il faut noter aussi l'importante contribution de Ernst Ruska (physicien allemand) qui en 1933 construisit le premier microscope à balayage à transmission en associant plusieurs lentilles magnétiques (équivalent des lentilles optiques mais pour les électrons) et partagea le prix Nobel de physique en 1986 avec Gerd Binnig et Heinrich Rohrer.

Les microscopes électroniques à balayage utilisent donc des électrons accélérés comme source de rayonnement de courte longueur d'onde pour plusieurs raisons :

- leur faible masse permet de les accélérer et de les focaliser au moyen d'un champ électromagnétique,
- une source d'électrons est facile à mettre en œuvre (contrairement à une source de particules de plus haute énergie comme les rayons X par exemple),
- les électrons sont plus facilement focalisés que des particules plus lourdes,
- l'interaction des électrons avec la matière est plus faible que pour des particules plus lourdes.

Tableau II - Analyse isotopique de différents miels du commerce selon la méthode de référence utilisant la SMRI. AS : anneau scléreux, OD : origines diverses, F : France, H : Hongrie. Extraits parmi 43 échantillons.

Échantillon (origine)	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ miel	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ protéines	$\delta$	Examen microsc.	SMRI	Microsc.
Toutes fleurs (F)	- 25,7 %	- 25,7 %	0	AS	conforme	<b>adultéré</b>
Acacia (H)	- 25,2 %	- 25,4 %	- 0,2	---	conforme	conforme
Lavande (F)	- 25,9 %	- 25,7 %	0,2	---	conforme	conforme
Acacia (OD)	- 23,9 %	- 25,4 %	- 1,5	AS	<b>adultéré</b>	<b>adultéré</b>
Forêt (F)	- 24,9 %	- 24,8 %	0,1	---	conforme	conforme
Toutes fleurs (OD)	- 24,4 %	- 25,6 %	- 1,2	AS	<b>adultéré</b>	<b>adultéré</b>
Toutes fleurs (OD)	- 24,7 %	- 25,8 %	- 1,2	AS	<b>adultéré</b>	<b>adultéré</b>

Ces avantages font que la microscopie électronique est utilisée dans des domaines aussi variés que les matériaux, l'agroalimentaire ou la micro-électronique. Elle est souvent utilisée pour la caractérisation et le contrôle des procédés de fabrication. Le fort grossissement qu'il est possible d'obtenir combiné à la grande profondeur de champ en font un outil de diagnostic exceptionnel pour la microfabrication.

Il existe deux types de microscopes électroniques à balayage : les microscopes à transmission qui permettent l'observation d'échantillons d'une épaisseur suffisamment faible pour être transparents aux électrons (quelques dizaines de nanomètres), et les microscopes à réflexion qui rendent possible l'observation de la surface d'objets massifs. Dans les deux cas, l'image est construite point par point, d'où l'appellation de microscope à balayage. Le fonctionnement et la mise en œuvre d'un appareil de MEB ne seront pas détaillés ici mais le lecteur pourra se référer à la littérature citée [21-24].

Une variante récente de la MEB est actuellement de plus en plus utilisée : la microscopie électronique environnementale à balayage ou ESEM (de l'anglais « *environmental scanning electron microscopy* »). Cette technique permet l'observation directe des matériaux (biologiques ou non) sensibles à l'eau, sans nécessiter de longues et fastidieuses préparations des échantillons, en particulier l'étape de métallisation qui consiste à revêtir les échantillons de faible conductivité électrique d'une mince couche métallique afin d'éviter les effets de charge [25-26].

Ces deux techniques (MEB et ESEM) ont été appliquées à la détection de l'adultération des miels. L'idée de base était de rechercher, de mettre en évidence et de caractériser les grains d'amidon. En effet, dans la plupart des échantillons de miel que nous avons observés par microscopie optique au laboratoire, nous avons constaté la présence de grains d'amidon de petite taille (*figure 4*), peu gonflés, et toujours en quantité extrêmement faible par rapport aux pollens (quelques grains d'amidon pour une centaine de pollens). La littérature spécialisée décrit l'amidon comme un contaminant naturel des miels lorsqu'il ne dépasse pas cette proportion. Or des échantillons en provenance du Mexique et d'Argentine notamment contenaient une grande quantité d'amidon et présentaient un état microscopique relativement « sale », c'est-à-dire avec un grand nombre de fragments de cellules végétales, assez peu de pollens, des levures... (*figure 5*).

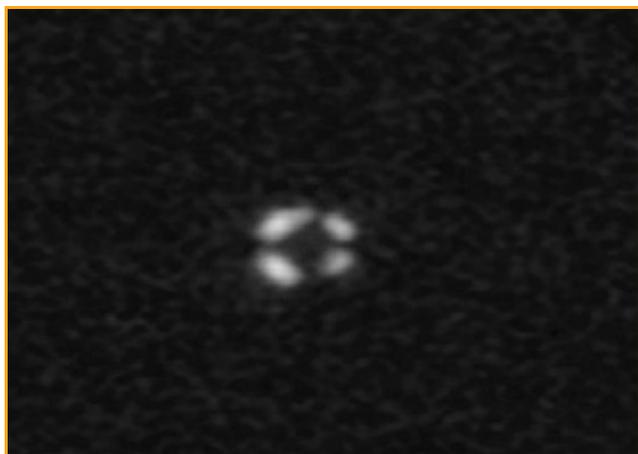


Figure 4 - Grain d'amidon observé dans un échantillon de miel. Microscope Carl Zeiss sous lumière polarisée, objectif A-Plan 40x/0,65, grossissement x400.

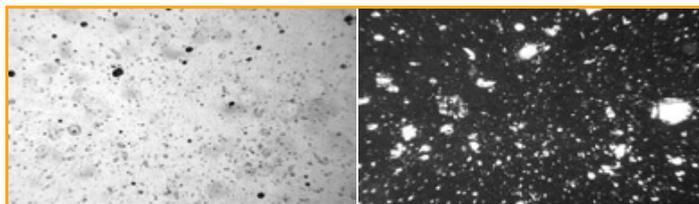


Figure 5 - Clichés de microscopie photonique d'un échantillon de miel présentant de nombreux fragments végétaux, des levures, des débris divers et peu de pollens, en lumière blanche à gauche et en lumière polarisée à droite. Les fragments et débris végétaux apparaissent en blanc grâce au phénomène de diffraction de la lumière.

Microscope Carl Zeiss, objectif Plan-Neofluor x2,5/0,075, grossissement x250.

Par ailleurs, l'analyse en microscopie électronique d'échantillons d'amidon de blé et de maïs (utilisés par l'industrie comme matière première pour l'élaboration de sirops de sucre) montre des grains dont la morphologie est très différente, ce qui autorise une identification assez facile de l'origine botanique de l'amidon. Il nous est clairement apparu que la microscopie électronique<sup>(6)</sup> pouvait constituer une technique alternative pour mettre en évidence l'adultération des miels par des sirops de sucre industriels ne présentant pas de traceurs cellulaires. Tel est le cas par exemple des sirops issus de l'hydrolyse de l'amidon du maïs ou de la betterave sucrière. Les essais ont été réalisés sur un échantillon de miel multifloral du commerce. Ce dernier a été choisi après vérification de la présence d'amidon par microscopie optique en lumière polarisée. Ce miel présentait également une cristallinité élevée et grossière. Les analyses physico-chimiques, organoleptique et pollinique conduisaient à le considérer comme un miel de qualité médiocre sans pouvoir conclure à sa non-conformité. Par ailleurs, des échantillons d'amidon de blé et de maïs ont également été observés par MEB afin de faciliter la comparaison des images obtenues. Les observations réalisées en microscopie environnementale (ESEM), avant toute extraction, sur l'échantillon de miel ne nous ont pas donné satisfaction car les conditions d'observation n'étaient pas adaptées. Après extraction, c'est la phase la plus dense (très riche en sucres) qui contient le plus d'amidon et une observation en microscopie environnementale montre des grains d'amidon de tailles variées, de 2 à 10  $\mu\text{m}$  (cf. *figure 6*), aux contours le plus souvent anguleux.

En microscopie électronique à balayage, on constate que le vide de la métallisation ( $10^{-2}$  torr) et le vide du microscope

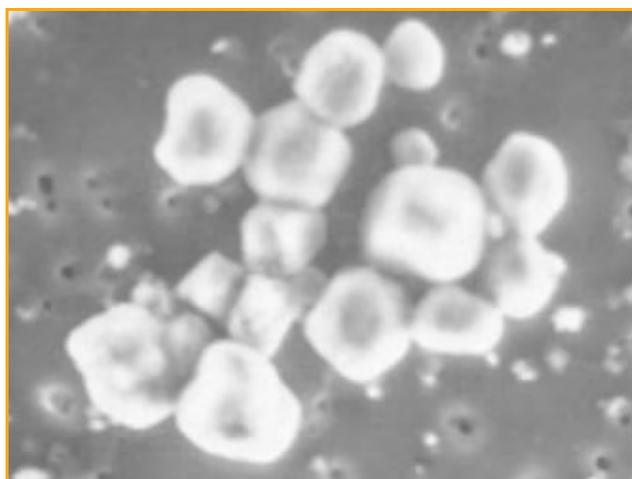


Figure 6 - Cliché ESEM de grains d'amidon extraits d'un échantillon de miel commercial adultéré et de qualité médiocre.

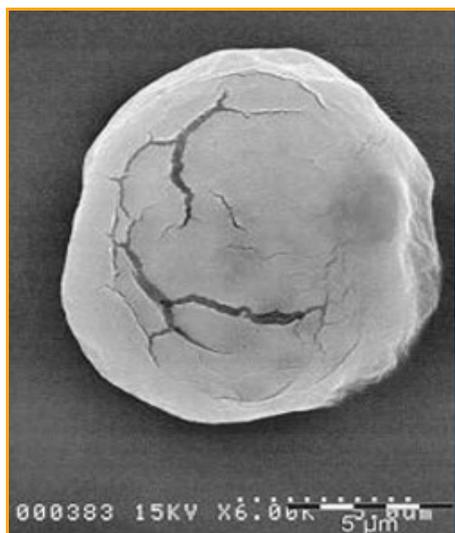


Figure 7 - Cliché MEB d'un grain d'amidon présentant des craquelures de la couche de métallisation dues au vide poussé du microscope.

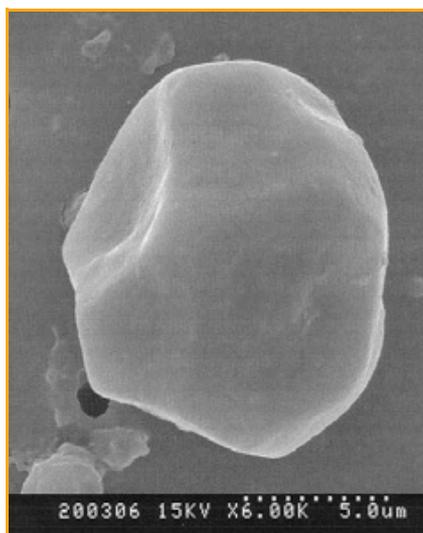


Figure 8 - Cliché MEB d'un grain d'amidon extrait d'un miel multifloral adultéré et de qualité médiocre.

dégradent souvent l'aspect de la surface des grains d'amidon : craquelures de la couche de métallisation au cours de l'observation (figure 7). L'influence de la métallisation sur l'aspect des formes ou éléments biologiques observés est un point délicat en microscopie électronique à balayage et peut amener une certaine confusion dans l'interprétation de ce qui est observé. C'est la raison pour laquelle la comparaison de l'iconographie trouvée dans la littérature scientifique spécialisée et sur de nombreux sites Internet d'une part, et des images obtenues sur des échantillons d'amidon de blé et de maïs pur (référence Prolabo) d'autre part nous a permis d'identifier l'origine des grains d'amidon extraits du miel multifloral étudié (figure 8).

Nous avons constaté la présence de grains d'amidon de forme anguleuse plus ou moins carrée provenant donc d'amidon de maïs, mais également de grains en forme de cœur présentant une fente de déhiscence<sup>(7)</sup> centrale assez prononcée indiquant une origine probable de plantes de type légumineuses. En terme quantitatif, il est clairement apparu que la proportion la plus élevée était en faveur des grains de forme anguleuse, tendant à prouver la présence de produit(s) issu(s) du maïs. Or comme nous l'avons décrit plus haut, la plupart des plantes visitées par les insectes pollinisateurs tels que l'abeille ne contiennent d'amidon ni dans le nectar, ni dans les pollens qu'elles produisent. L'adultération de l'échantillon étudié est donc maintenant avérée.

## Conclusion

Ces deux études en microscopie optique et électronique montrent tout l'intérêt pour le chimiste de s'intéresser à d'autres domaines des sciences. Une approche purement chimique ou physique du problème de l'adultération n'aurait pas pu apporter ce point de vue sur les échantillons et la détection des fraudes dans le miel n'aurait pu être réalisée aussi simplement.

Nous avons vu que la microscopie optique se révèle plus performante que la spectrométrie de masse des rapports isotopiques qui est encore aujourd'hui la technique de référence.

La recherche de traceurs cellulaires (cellules de canne à sucre) constitue une approche très rapide et simplifiée

pour la mise en évidence d'une incorporation de sirops de sucre industriels de type C4 aux miels.

Cet outil est admirablement complété par la microscopie électronique qui permet de détecter les ajouts de sirop de maïs et de façon générale de sirops d'origine C3 et C4. La microscopie électronique à balayage a été fort instructive à plus d'un titre. Tout d'abord, elle a permis de répondre à la question : « l'amidon est-il un constituant naturel des miels ? » Nous savons maintenant de façon plus précise qu'il n'en est rien, et que tout est question de quantité. De plus, la bonne adéquation de la technique à la reconnaissance et à l'identification des grains d'amidon dans les échantillons biologiques tels que le miel, permet d'envisager son utilisation pour le contrôle et/ou

la confirmation du diagnostic de conformité des échantillons. Compte tenu des évolutions technologiques et de la démocratisation de ce type de technique, on est en droit d'espérer que la microscopie électronique devienne une technique de routine aisément accessible aux laboratoires en charge, entre autres, du contrôle de qualité des miels. Elle représente une solution très intéressante lorsque l'on est confronté à une adultération avec des sirops issus de plantes à sucres de type C3 telles que l'érable, la betterave et de nombreux fruits. Rappelons qu'à l'heure actuelle, la spectrométrie de masse du carbone 13 est sans secours pour ce type d'adultération.



## Notes et références

- (1) Pline l'Ancien (né en 23 après J.-C. à Côme, mort en 79 à Stabies, près de Pompéi, lors de l'éruption du Vésuve), écrivain et naturaliste romain, auteur notamment d'une encyclopédie célèbre et colossale intitulée *Histoire naturelle*.
- (2) Alinorm 87/20, amélioration de la directive 74/409/CEE, remplacée depuis par la norme 2001/110/CE.
- (3) Un test chimique classique caractéristique de la présence d'amidon est la mise en présence d'une solution aqueuse de diode (lugol, 10 % KI, 5 % I<sub>2</sub>, complété avec H<sub>2</sub>O à 100 mL). Cette dernière, initialement jaune, vire au violet en présence d'amidon par complexation.
- (4) *Boraginaceae, Compositae, Labiatae, Leguminosae, Myrtaceae, Rosaceae, Scrophulariaceae, Amaryllidaceae, Iridaceae et Liliaceae.*

- (5) Une évolution importante de la technique augmente nettement cette sensibilité qui est aujourd'hui de l'ordre de 5 % grâce au couplage HPLC-SMRI qui permet de déterminer la quantité de carbone 13 dans chaque sucre (glucose, fructose, saccharose, etc.).
- (6) Les caractéristiques techniques des microscopes utilisés dans cette étude sont disponibles sur [www.lactualitechimique.org](http://www.lactualitechimique.org), page liée à la présentation de cet article (fichier pdf téléchargeable gratuitement).
- (7) La *déhiscence* est une ouverture superficielle de la surface externe d'une cellule généralement due à un effet de sécheresse du milieu. Les spores et graines des plantes sont parfois projetées au loin par ce phénomène qui libère une force mécanique suffisante.
- [1] Cordella C., Microscopie optique et électronique, *Caractérisation des aliments et détection de l'adultération : application aux miels. Intégration d'outils chimométriques et informatiques aux développements analytiques*, Thèse de doctorat, Université de Nice Sophia-Antipolis, 2003.
- [2] Pangaud C., *Revue bibliographique des intoxications de l'abeille*, Première thèse, Faculté des sciences de l'Université de Clermont-Ferrand, 1960.
- [3] Gaignebet C., *A Plus Haut Sens. L'ésotérisme spirituel et charnel de Rabelais*, Tome II, Éd. Maisonneuve et Larose, Paris, 1986.
- [4] Sanford M.T., Honey Adulteration, Fact sheet ENY-103, 1999, Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, <http://edis.ifas.ufl.edu/AA155>.
- [5] Schoch T.J., Maywald E.C., Industrial Microscopy of Starches, *Starch, Chemistry and Technology*, R.L. Whistler, E.F. Paschall (eds), Academic Press, New York, 1967, Vol. 2, p. 637-647.
- [6] Wivinis G.P., Maywald E.C., Photographs of starches, *Starch, Chemistry and Technology*, R.L. Whistler, E.F. Paschall (eds), Academic Press, New York, 1967, Vol. 2, p. 649-685.
- [7] McCready R.M., Starch and dextrin, *Methods in Food Analysis. Physical, Chemical, and Instrumental Methods of Analysis*, M.A. Joslyn (ed), 2<sup>nd</sup> Ed., Academic Press, New York, 1970, p. 541-563.
- [8] Lobreau-Callen D., Clément M.-C., Les Miels, *Techniques de l'Ingénieur*, 2001, F2 Agroalimentaire, F7000-1 à F7000-20.
- [9] Franchi G.G., Bellani L., Nepi M., Pacini E., Types of carbohydrate reserves in pollen: localization, systematic distribution and ecophysiological significance, *Flora*, 1996, 191, p. 143.
- [10] Merlet P.Y., *Le Miel*, Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse, 1981.
- [11] Louveaux J., Maurizio A., Vorwohl G., Methods of mellissopalynology, *Bee World*, 1978, 59(4), p. 139.
- [12] Kerkvliet J.D., Shrestha M., Tuladhar K., Manandhar H., Microscopic detection of adulteration of honey with cane sugar and cane sugar products, *Apidologie*, 1995, 26, p. 131.
- [13] Antinelli J.-F., Clément M.-C., Moussa I., Cordella C., Faucon J.-P., Détection de canne à sucre dans les miels par analyse isotopique et microscopique : étude et comparaison, *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 2001, 94(954), p. 13.
- [14] White J.W., Internal standard stable carbon isotope ratio method for determination of C-4 plants sugars in honey: collaborative study; Evaluation of improved protein preparation procedure, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1992, 75(3), p. 543.
- [15] Meier-Augenstein W., Applied gas chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, 1999, 842, p. 351.
- [16] White J.W., Winters K., Martin P., Rossmann A., Stable carbon isotope ratio analysis of honey: validation of internal standard procedure for worldwide application, *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, 1998, 81(3), p. 610.
- [17] Knoll M., Aufladepotential und Sekundäremission elektronenbestrahteter Körper, *Z. Tech. Phys.*, 1935, 16, p. 467.
- [18] Von Ardenne M., Das Elektronen-Rastermikroskop. Theoretische Grundlagen, *Z. Tech. Phys.*, 1938a, 109, p. 553.
- [19] Von Ardenne M., Das Elektronen-Rastermikroskop. Praktische Grundlagen, *Z. Tech. Phys.*, 1938b, 19, p. 407.
- [20] Zworykin V.A., Hillier J., Snyder R.L., A scanning electron microscope, *ASTM Bull.*, 1942, 117, p. 15.
- [21] Cued B.C.B., The early history and development of the scanning electron microscope, 2006, [www2.eng.cam.ac.uk/~bcb/history.html](http://www2.eng.cam.ac.uk/~bcb/history.html).
- [22] Echlin P., Low temperature scanning electron microscopy: a review, *J. Microscopy*, 1978, 112(1), p. 47.
- [23] Pomeranz Y., Scanning electron microscopy in food science and technology, *Adv. Food Res.*, 1976, 22, p. 205.
- [24] Perrin M., Microscopie électronique à balayage et microanalyse, Cours du Centre de Microscopie Électronique à Balayage et microAnalyse (CMEBA-Lyon), [www.cmeba.univ-rennes1.fr/Principe\\_MEB.html](http://www.cmeba.univ-rennes1.fr/Principe_MEB.html).
- [25] Thomass T., La microscopie électronique « environnementale » à balayage – (ESEM-FEG), Université de Technologie de Compiègne, [www.utc.fr/~tthomass/](http://www.utc.fr/~tthomass/)
- [26] Mercier J.-P., Bedue O., Biebuyck J.-J., Kartheuser B., Application de la microscopie électronique à balayage « environnementale » à l'étude de la microstructure de la cellulose régénérée, 30<sup>e</sup> Colloque annuel du Groupe Français d'études et d'applications des Polymères – Polymères 2000, Paris, 21-23 nov. 2000.



C.B.Y. Cordella

### Christophe B.Y. Cordella

(auteur correspondant)

est chimiométricien et ingénieur de recherche INRA au Laboratoire de chimie analytique d'AgroParisTech\*.



I. Moussa

### Issam Moussa

est ingénieur d'étude CNRS à l'Institut des Sciences de l'Évolution (ISEM), Montpellier\*\*.

\* Laboratoire de Chimie Analytique, INRA/INAPG AgroParisTech, UMR 214 Ingénierie Analytique pour la Qualité des Aliments, 75005 Paris.

Courriel : [christophe.cordella@paris.inra.fr](mailto:christophe.cordella@paris.inra.fr)

\*\* ISEM, UMR 5554 du CNRS, Université Montpellier 2, place E. Bataillon, bât. 22 – case courrier 064, 34095 Montpellier Cedex 05.



www.lactualitechimique.org

Connaissez-vous bien le site de l'AC ?

**Vous y trouverez :**

- le sommaire et l'éditorial du dernier numéro
- des actualités
- un moteur de recherche

**Et aussi :**

- les articles en ligne (certains accessibles gratuitement, d'autres au prix de 4€)
- les archives des numéros thématiques (depuis 1999) ou à rubriques (depuis 2000)

**Sans oublier que vous pouvez également :**

- acheter un numéro en pdf
- vous abonner à la version électronique

Alors vite, à votre souris !

# La détection d'explosifs

## État de l'art et développement de capteurs fluorescents performants

Simon Clavaguera, Frédéric Parret, Clément Véron, Pierre Montméat, Jean-Pierre Lère-Porte et Lionel Hairault

**Résumé** La détection d'explosifs est devenue un enjeu majeur dans le cadre de la lutte contre le terrorisme. Cet article fait état des différentes techniques utilisées ou développées actuellement. Parmi celles-ci, les capteurs chimiques offrent des perspectives intéressantes en termes de portabilité, de coût de revient et de facilité d'utilisation. Les différents types de capteurs chimiques sont ainsi détaillés. Enfin, les développements du CEA Le Ripault présentés en dernière partie montrent qu'il est possible à l'aide de matériaux  $\pi$ -conjugués spécifiquement synthétisés pour cette application, de détecter le 2,4-dinitrotoluène (DNT), impureté présente dans de nombreuses compositions explosives à base de trinitrotoluène (TNT), aussi bien par inhibition de fluorescence qu'à l'aide d'une microbalance à quartz.

**Mots-clés** Capteurs chimiques, explosifs, fluorescence.

**Abstract** **The detection of explosives: state of art and development of competitive fluorescent sensors**  
Chemical sensors for the detection of explosives have attracted an increasing attention over the last decade. There is a demand for quick and reliable means of detection of these substances particularly to anticipate terrorist attacks. This paper presents the state-of-the-art technologies for the detection of explosives. Chemical sensors are among the most sensitive, rapid and portable techniques for an affordable cost. The developments in the CEA Le Ripault highlight the opportunity to use  $\pi$ -conjugated materials to detect 2,4-dinitrotoluene (DNT) via fluorescence quenching or with a quartz crystal microbalance.

**Keywords** Chemical sensors, explosives, fluorescence.



La problématique de la lutte contre les menaces terroristes a pris en France, comme dans tous les autres pays occidentaux, une ampleur considérable depuis le 11 septembre 2001. Cette question dont l'impact sociétal est très fort, a conduit les pouvoirs publics à mettre en œuvre un plan global de lutte contre les menaces

terroristes intégrant un important volet de recherche et développement à l'élaboration duquel le CEA a activement contribué dans le cadre du programme interministériel NRBC<sup>(1)</sup>. Ce programme vise à concevoir et à développer les moyens de détecter la menace, de la diagnostiquer et de lutter efficacement contre. L'ensemble des menaces terroristes doit être couvert. La thématique de la détection des explosifs revêt un caractère particulièrement important puisque ces derniers sont utilisés par les groupes terroristes pour satisfaire à deux objectifs. Le premier consiste à utiliser le pouvoir brisant de l'explosif afin de causer de nombreux dégâts aux biens et aux personnes, le second permet de disperser un agent toxique ou pathogène dans un environnement particulier afin de créer le plus grand nombre de victimes possible. Cette conjoncture a conduit le CEA à développer plusieurs voies innovantes de capteurs chimiques où la recherche combinée de la sensibilité et de la sélectivité a été privilégiée, comme nous le verrons plus loin. Ainsi, l'utilisation conjointe des techniques de la microélectronique et de la chimie organique a constitué une avancée significative avec la réalisation de prototypes.

Cet article décrit les différentes familles d'explosifs et leurs propriétés, puis dresse un état de l'art complet des technologies existant aujourd'hui pour répondre à ce besoin. Enfin, il présente les développements entrepris par le CEA

Le Ripault dans le domaine des capteurs chimiques de type microbalance à quartz ou fluorescents, du matériau sensible jusqu'au prototype opérationnel.

### Les différentes familles d'explosifs

Les explosifs sont constitués d'un mélange intime entre un oxydant (atomes d'oxygène, groupes nitro...) et un réducteur (atomes de carbone et d'azote). Dans certains cas, l'oxydant et le réducteur sont des fonctions chimiques présentes sur une même molécule. L'initiation donne lieu à une décomposition très fortement exothermique et extrêmement rapide qui conduit à des produits gazeux.

Les molécules explosives sont regroupées en quatre grandes familles (tableau I). Parmi ces composés, les peroxydes organiques ont récemment été utilisés lors des attentats de Londres en 2005. Le TATP et le HMTD sont les plus courants. Leur usage à des fins terroristes est principalement dû à leur synthèse qui nécessite peu de moyens et de compétences. Les toutes premières études sur la détection de ces composés apparaissent actuellement mais ne feront pas l'objet de cet article. Nous nous concentrerons sur la famille des explosifs nitrés.

Pour détecter des traces de vapeurs d'explosifs, il convient de s'intéresser à leur pression de vapeur :

Explosifs	TNT (ppb <sup>v</sup> )	DNT (ppb <sup>v</sup> )	RDX (ppt <sup>v</sup> )	PETN (ppt <sup>v</sup> )	NG (ppb <sup>v</sup> )
Pression de vapeur saturante	1 à 11	193 à 289	1,3 à 6	18	340 à 410

Afin d'être capable d'identifier la présence d'explosifs à une relative proximité de l'objet, il est nécessaire de détecter

Tableau I - Les molécules explosives sont regroupées en quatre grandes familles.

Famille	Exemple de composés
Nitroaromatiques	1,3,5-trinitrotoluène (TNT), acide picrique, hexanitrostilbène (HNS), dinitrobenzène (DNB), 1,3,5-trinitrobenzène (TNB), 2,4-dinitrotoluène (DNT), 1,3,5-triamino-2,4,6-trinitrobenzène (TATB), tétryl, acide picrique (AP)
Nitramines ou Nitrosamines	octogène (HMX), hexogène (RDX)
Esters nitriques	pentrite (PETN), éthylène glycol dinitrate (EGDN), nitroglycérine (NG), nitroguanidine (NGA)
Peroxydes	triacétone triperoxyde (TATP), hexaméthyltriperoxyde (HMTD)

des concentrations comprises approximativement entre le centième et le millième de la pression de vapeur, soit de 100 ppt<sup>v</sup> à 1 ppb<sup>v</sup> pour le DNT. La détection de traces de vapeurs d'explosif devient donc un défi monumental.

## État de l'art et dispositifs technologiques commercialisés

### Dispositifs disponibles ou commercialisés

Parmi les méthodes spécifiques et facilement mobiles, figure en premier lieu l'utilisation d'animaux, notamment de chiens, qui permettent d'atteindre des niveaux de sensibilité très élevés. Les chiens sont considérés comme l'outil le plus fiable pour la détection d'explosifs depuis la Seconde Guerre mondiale. L'identification d'explosifs par les chiens entraînés a un taux de réussite de l'ordre de 90 à 95 % [1]. Cependant, cette méthode est chère et n'est pas adaptée pour le suivi continu puisque les chiens demandent une attention particulière et sont rapidement fatigués [2]. Des petits animaux comme le rat [3] ou l'abeille [4] ont également été utilisés.

Les techniques d'imagerie par rayons X sont également employées pour détecter les explosifs dans diverses situations, le plus souvent pour surveiller les bagages, valises et autres affaires personnelles dans certains lieux publics et aéroports. Le fort rayonnement qui leur est lié les rend inopérantes sur l'Homme. D'autres techniques plus récentes d'imagerie passive utilisant des ondes millimétriques sont maintenant disponibles. C'est le cas par exemple de systèmes développés par la société Brijot<sup>(2)</sup> qui permettent d'imager et d'interpréter l'image en simultané sans l'expertise d'une personne formée pour cela.

Enfin, la spectroscopie à mobilité ionique (IMS) est l'une des techniques les plus utilisées pour la détection de traces d'explosifs. Elle consiste à soumettre des molécules ionisées à un champ électrique. Les ions sont détectés en fonction de leur vitesse qui dépend de leur masse, leur taille et leur forme, et sont ainsi séparés. Des détecteurs de traces par IMS ont été miniaturisés sous les noms d'IMS Ionscan 400B et 500DT<sup>(3)</sup>, de MicroHound<sup>TM(4)</sup> et de E5000 qui est un appareil couplé chromatographe en phase gazeuse (GC)/IMS<sup>(5)</sup> (figure 2). Cette technique est couramment utilisée dans les



Figure 2 - Les principaux détecteurs d'explosifs par IMS.

aéroports. Sa gamme de sensibilité se situe du picogramme au nanogramme, mais elle est relativement coûteuse – le prix des appareils est de l'ordre de 30 à 80 k\$ –, dépendante de l'opérateur et donne parfois des faux positifs. De plus les spectromètres nécessitent d'être fréquemment calibrés [5]. Actuellement, les appareils transportables Ionscan et E5000 sont beaucoup plus fiables que les appareils portables.

De façon générale, le coût élevé de ces appareils (à partir de 30 k€) et leur relative fiabilité reste un frein à leur généralisation. C'est probablement une combinaison de plusieurs de ces techniques qui répondra à la problématique de détection d'explosifs dans son ensemble. L'analyse de l'existant en termes de dispositifs commerciaux montre qu'il existe actuellement peu de systèmes de détection d'explosifs portables basés sur une sélectivité chimique entre le revêtement sensible et le gaz. Il apparaît que ces capteurs pourraient offrir une solution aussi performante (voire plus sélective) et surtout plus facilement déployable en grande quantité du fait de leurs faibles coûts, taille, poids et autonomie.

### Capteurs chimiques en développement

#### Capteurs piézo-électriques

##### • Microbalance à quartz

La microbalance à quartz est le plus connu et le plus utilisé des transducteurs piézo-électriques. Le principe consiste à entretenir des oscillations au sein du cristal en se plaçant autour de sa résonance. Le signal actif correspond alors à la fréquence de résonance du transducteur. Il faut noter que même si la détection est principalement gravimétrique, d'autres paramètres comme la variation de viscosité ou de densité du film sensible entrent en ligne de

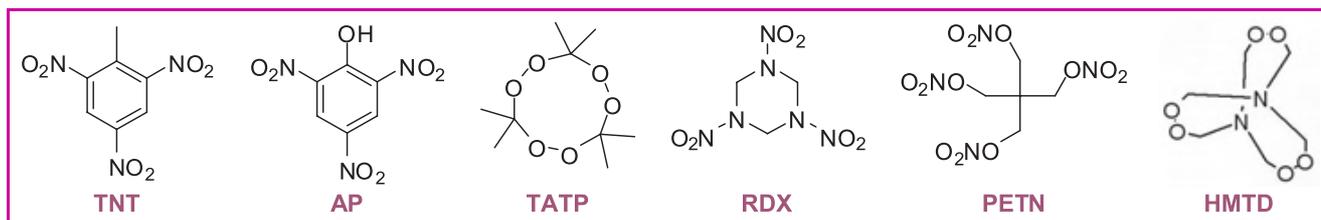


Figure 1 - Structure de différents explosifs.

compte. La relation de Sauerbrey pour les films rigides relie une fréquence d'oscillation à une variation de masse en surface du quartz.

Depuis quelques années, les matériaux sensibles aux nitroaromatiques déposés sur les microbalances ont été beaucoup étudiés (figure 3). Différentes familles ont été testées (cavitands, macrocycles ou encore polymères), et des polyéthylènes glycol (Carbowax 1000) [6] et des polysiloxanes [7] ont montré des résultats intéressants pour la détection de nitrotoluène. Par ailleurs, des phthalocyanines de cuivre, qui sont connues pour être de bons adsorbants de nombreux composés, donnent de relativement bonnes sensibilités vis-à-vis du nitrobenzène. La réponse limite de 10 Hz est observée pour une concentration de 0,78 ppm<sup>V</sup>, la sélectivité est néanmoins faible [8].

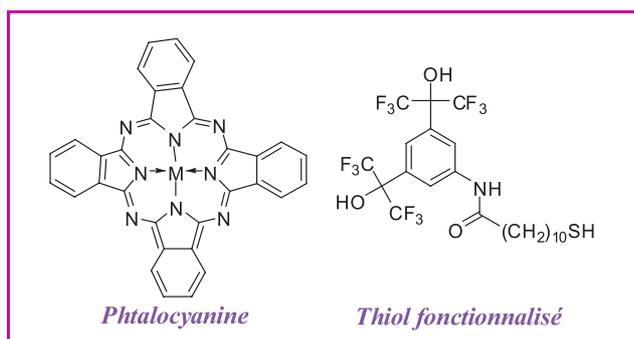


Figure 3 - Exemples de matériaux sensibles utilisés avec la microbalance à quartz.

Le CEA Le Ripault a testé des matériaux polymères de type polysiloxane qui permettent de détecter le DNT et le TNT à des concentrations proches de leur pression de vapeur. Plusieurs prototypes ont été développés montrant qu'il était possible de proposer, à l'aide de la microbalance à quartz, des détecteurs portables à faibles coûts et présentant des caractéristiques de sensibilité, de sélectivité et de stabilité dans le temps tout à fait remarquables (figure 4). Le CEA Le Ripault a également développé des thiols fonctionnalisés [9-10] et des métalloporphyrines [11] qui permettent de détecter sélectivement des nitroaromatiques. Une approche multicapteur a été développée avec comme combinaison de matériaux sensibles des calixarènes, du poly(pentiptycène), des phthalocyanines et des porphyrines [12].



Figure 4 - Exemples de dispositifs portables à microbalance à quartz développés au CEA Le Ripault.

#### • Ondes acoustiques de surface

Les dispositifs à ondes acoustiques de surface figurent parmi les transducteurs les plus prometteurs car leurs fréquences nominales d'utilisation sont bien supérieures à celles des microbalances à quartz (souvent > 100 MHz). Ainsi, des sensibilités en masse *a priori* plus importantes sont obtenues même si la composante massique n'est pas la seule à provoquer un changement de fréquence. Le principe repose sur la propagation d'une onde à la surface du matériau sensible. En raison de la technologie planaire

utilisée pour sa mise en œuvre, ce type de dispositif est appelé généralement dispositif à ondes de surface (SAW). Les ondes de surface sont issues de déformations mécaniques à l'interface d'un solide et sont guidées à la surface de propagation par confinement de leur énergie élastique. Un grand nombre de polysiloxanes ont été testés et ont montré qu'ils adsorbent préférentiellement les vapeurs de nitroaromatiques à des vapeurs d'interférents comme l'eau et des solvants organiques (octane et toluène). Un polymère siloxane a montré une forte sensibilité au nitrobenzène ainsi qu'au DNT. Un signal réversible est observé avec le DNT pour une exposition à 400 ppb de DNT. Par extrapolation, la limite de détection est estimée à 235 ppt<sup>V</sup>.

Le Carbowax 1000, polymère organique de la famille des polyéthylène glycols, a été testé sur un dispositif SAW pour la détection de nitroaromatiques. Ces films sensibles sont stables jusqu'à 225 °C et adsorbent les nitroaromatiques de façon réversible. Un dispositif SAW ayant comme film sensible le Carbowax 1000 (10 μm) montre en une minute d'exposition à 3 L/h de DNT un changement de fréquence notable pour 117 ppb<sup>V</sup> de DNT.

Des dispositifs basés sur les SAW ont été commercialisés sous le nom HAZMATCAD™ Plus pour la détection d'agents de guerre chimique et de nitroaromatiques notamment.

Il existe également des capteurs basés sur le principe des microleviers qui sont actuellement en développement pour la détection d'explosifs.

#### Capteurs optiques

Depuis le début du XX<sup>e</sup> siècle, les techniques spectroscopiques pour l'analyse chimique ont été développées et utilisées massivement. Les capteurs chimiques basés sur ces techniques présentent un attrait considérable actuellement. Plusieurs études complètes sur les capteurs optiques ont été publiées récemment et font référence dans la littérature [13-15].

#### • Matériaux utilisés pour les capteurs optiques

Trois revues extrêmement bien référencées ont été publiées par les groupes de Swager [16] et de Trogler au cours des dernières années sur la détection d'explosifs en utilisant notamment des composés organiques fluorescents. Les polymères conjugués fluorescents organiques et inorganiques ainsi que les agrégats supramoléculaires ont été étudiés pour la détection d'explosifs nitroaromatiques en solution et en phase gaz. Les limites de détection sont le plus souvent de l'ordre du ppb<sup>V</sup> avec des extrapolations en ppt<sup>V</sup>. La plupart du temps, l'inhibition de fluorescence suit un mécanisme de transfert d'électron donneur/accepteur. Les analytes pauvres en électrons, tels que les nitroaromatiques, jouent le rôle d'accepteurs d'électrons pour les électrons photoexcités du matériau sensible.

#### • Poly(para-phénylèneéthynylènes) (PPE)

Afin de faciliter l'interaction du nitroaromatique avec un matériau organique fluorescent, Yang et Swager ont développé une série de PPE poreux utilisant une structure rigide cruciforme de type pentiptycène (figure 5a) [17]. Ces matériaux possèdent une structure rigide tridimensionnelle qui évite les interactions par empilement π. De plus, les

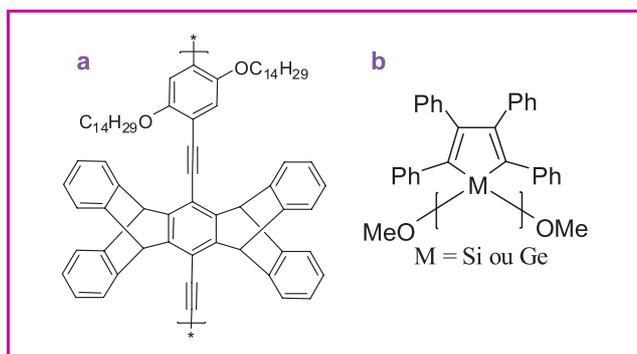


Figure 5 - a) le pentiptycène ; b) les polymétalloles.

structures cruciformes permettent d'augmenter la porosité du film en créant des cavités. Les rendements quantiques de fluorescence sont exaltés et la sensibilité vis-à-vis du TNT est améliorée grâce à ce motif iptycène. La société ICx Nomadics<sup>(6)</sup> a développé plusieurs dispositifs en utilisant le pentiptycène comme matériau sensible pour la détection de vapeurs de TNT et de DNT. Le dispositif commercial, appelé Fido, permet le suivi en temps réel de l'intensité de fluorescence d'une couche mince de polymères conjugués exposée à des vapeurs d'explosifs. Une sensibilité de l'ordre du femtogramme a été démontrée sur ce dispositif lors de tests en 2001 et le fabricant revendique une sensibilité jusqu'à 0,1 ppt.

#### • Polymères inorganiques conjugués

Trogler et Sailor ont publié plusieurs de leurs travaux décrivant comment les poly(silole)s peuvent être utilisés pour la détection de nitroaromatiques par inhibition de fluorescence. Les poly(silole)s, comme le poly(tétraphényl-1,1-silole) ont un squelette Si-Si. Les copolymères métalloles (figure 5b) sont robustes et insensibles aux interférents courants tels que les solvants et les acides. Ces matériaux présentent des sensibilités en milieu liquide deux à cinq fois supérieures à celles décrites par l'équipe de Swager avec les pentiptycènes en solution dans le toluène. Cependant les pentiptycènes offrent une sensibilité supérieure à l'état solide [18].

#### Bilan des différentes technologies identifiées

Le tableau II rassemble les principales technologies utilisées pour la détection d'explosifs (principalement nitrés). Il apparaît que les sensibilités les meilleures correspondent au chien, aux techniques analytiques de laboratoire (IMS par exemple), aux dispositifs à ondes de volume (SAW) et à la fluorescence. Les capteurs chimiques, en raison de leur faible coût, de leur utilisation aisée et de leur portabilité, sont

tout à fait concurrentiels par rapport aux technologies existantes. En conséquence, le CEA Le Ripault a développé les deux techniques d'avenir que sont les dispositifs SAW et la fluorescence.

## Développement de capteurs chimiques pour la détection d'explosifs

### Présentation du matériau sensible

Cette partie présente un exemple de développement d'un matériau sensible aux explosifs. À partir du même matériau, deux dispositifs sensibles seront testés, à savoir une microbalance à quartz et un capteur fluorescent.

Comme cela a déjà été évoqué, les polymères constituent une famille de composés particulièrement intéressants pour la détection des gaz et notamment des explosifs. C'est une des raisons pour lesquelles nous avons mis au point des polymères chiraux  $\pi$ -conjugués spécifiques à la détection des explosifs de type nitroaromatiques comme le TNT [19-20]. Un exemple de matériau de type polyimine est présenté figure 6. Ce matériau se compose d'une structure  $\pi$ -conjuguée qui lui confère le caractère fluorescent, et d'un cycle aromatique substitué par des groupements alkoxyles qui confèrent une richesse en électrons suffisante pour présenter une excellente affinité pour les nitroaromatiques pauvres en électrons. Ces groupements facilitent la mise en solution du polymère, et par conséquent sa mise en forme, et une unité chirale qui confère une bonne porosité au matériau sous forme de film mince.

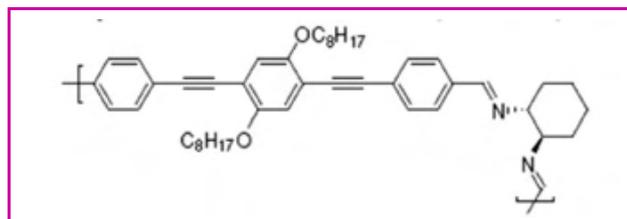


Figure 6 - Polyimine racémique.

### Microbalance à quartz

Le premier système de détection auquel on peut s'intéresser est la microbalance à quartz. Une microbalance à quartz de fréquence fondamentale de 9 MHz est revêtue d'un film mince de polyimine. La microbalance et le dispositif de mesure sont présentés en figure 7. L'appareillage qui permet d'acquérir la fréquence de la microbalance a été développé au laboratoire, il présente une résolution de 1 Hz.

Tableau II - Les principales technologies utilisées pour la détection d'explosifs.

Technologies	Degré de développement	Coût	Sensibilité	Portabilité	Limitation
Chien	commercialisé	10 à 20 k\$ + nourriture	ppb/ppt	transportable	Formation de l'opérateur nécessaire Suivi continu impossible
IMS	commercialisé	30 à 80 k\$	ppm/ppb	portable	Calibration fréquente nécessaire
Capteurs piézo-électriques	MBQ	-	ppm/ppb	portable	Sélectivité et sensibilité dépendante de la couche sensible
	SAW	-	ppb/ppt	portable	
	Microleviers	-	ppm/ppb	-	
Fluorescence	développement	-	ppb/ppt	portable	Sélectivité et sensibilité dépendante de la couche sensible

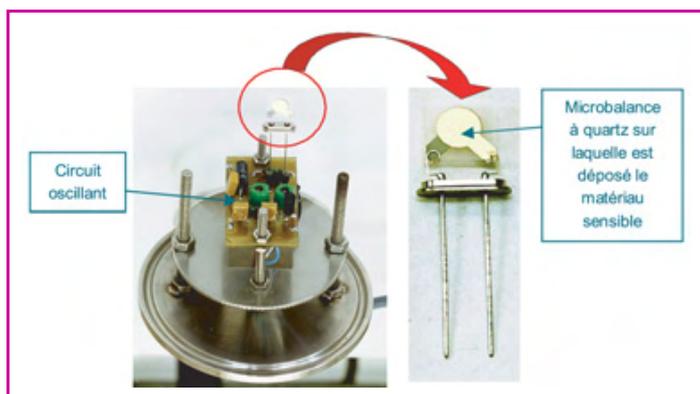


Figure 7 - La microbalance et le dispositif de mesure associé.

Le capteur constitué par la microbalance revêtue de polymère a été exposé à différentes vapeurs à 20 °C. Pour le 2,4-dinitrotoluène, représentatif des explosifs de type nitroaromatique, la concentration testée est de 300 ppb et différents solvants interfèrent, représentatifs d'atmosphères polluées exemptes de traces d'explosifs : le dichlorométhane, le toluène, la méthyléthylcétone et l'éthanol. Dans chaque cas, la concentration testée est supérieure à 10 000 ppm. Les signaux du capteur sont présentés en figure 8. On constate que chaque vapeur conduit à une diminution de fréquence de la microbalance qui traduit une adsorption des vapeurs à la surface du matériau. La cinétique d'adsorption et de désorption est lente dans le cas du DNT, et beaucoup plus rapide dans le cas des solvants. Si l'on s'intéresse aux sensibilités du matériau, c'est-à-dire aux réponses ramenées à 1 ppm pour chaque vapeur, on constate que la sensibilité du polymère au DNT atteint 266 Hz/ppm alors qu'elle est toujours très inférieure à 0,1 pour les solvants (tableau III).

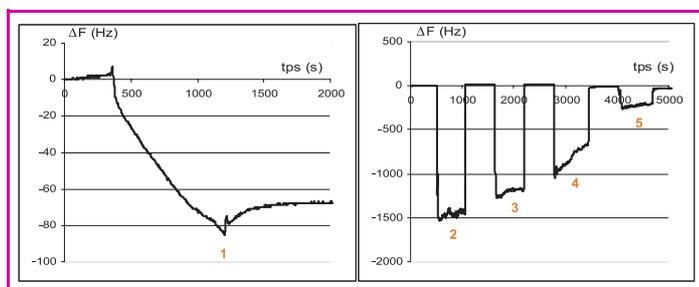


Figure 8 - Réponses de la microbalance au DNT (1), au dichlorométhane (2), au toluène (3), à la méthyléthylcétone (4) et à l'éthanol (5).

Tableau III - Sensibilité du polymère à différentes vapeurs.

Analyte	Concentration (ppm)	Réponse (Hz)	Sensibilité (Hz/ppm)
<b>DNT</b>	0,3	80	266
<b>dichlorométhane</b>	580 000	1456	0,003
<b>toluène</b>	38 000	1204	0,032
<b>méthyléthylcétone</b>	126 000	758	0,006
<b>éthanol</b>	79 000	199	0,003

### Capteur fluorescent

On peut mettre à profit la fluorescence du polymère π-conjugué en utilisant ce matériau comme capteur optique. Le dispositif de mesure se compose d'un spectrofluorimètre

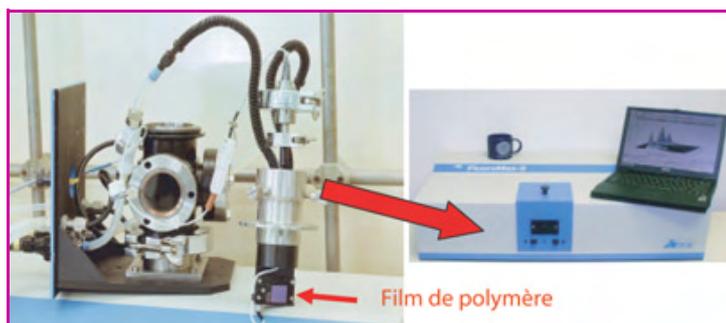


Figure 9 - Cellule de détection et spectrofluorimètre.

FLUROMAX 3 (Jobin Yvon) et d'une cellule spécifique (figure 9). Cette cellule permet de mesurer la fluorescence d'un matériau déposé sur une lame de quartz tout en plaçant dans différentes atmosphères gazeuses.

Un exemple de réponse au DNT d'une lame de quartz revêtue de polyimine est présenté en figure 10. Nous avons choisi d'exciter le matériau à une longueur d'onde de 391 nm, l'intensité de fluorescence est mesurée à 508 nm. On constate qu'elle diminue très nettement en présence de DNT.

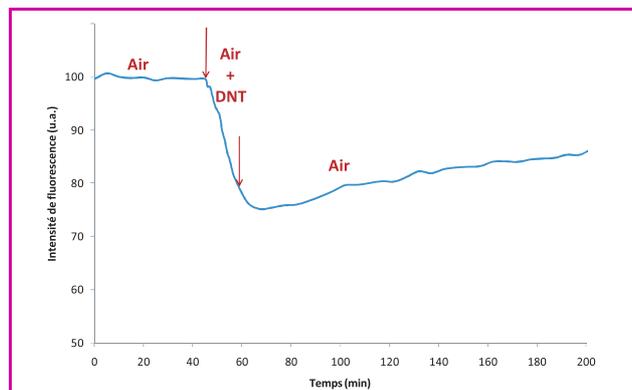


Figure 10 - Suivi de l'intensité de fluorescence du polymère sous air puis sous DNT (100 ppb).

Le caractère π-conjugué, la présence d'un cycle enrichi en électrons et d'une unité chirale confère au matériau une aptitude marquée pour la détection des nitroaromatiques. Ce composé peut ainsi être utilisé avec succès comme élément sensible d'un capteur fluorescent ou d'une microbalance à quartz.

### Conclusion

Malgré l'enjeu capital dans la lutte antiterroriste, il existe aujourd'hui peu de dispositifs commerciaux opérationnels pour la détection d'explosifs en mode vapeur. Les technologies les plus performantes actuellement sont la spectrométrie à mobilité ionique associée à un prélèvement par frottis. C'est pourquoi un fort intérêt s'est porté lors des années passées sur la recherche et le développement de capteurs chimiques de gaz. Ceux-ci offrent l'avantage de pouvoir détecter les vapeurs d'explosifs avec des dispositifs à faible coût et simples d'utilisation. À ce titre, le CEA Le Ripault a pu mettre au point en collaboration avec un laboratoire de l'École de Chimie de Montpellier un matériau organique présentant la particularité de pouvoir détecter une centaine de ppb de 2,4-DNT aussi bien par microbalance

à quartz que par fluorescence. Les premiers dispositifs devraient voir le jour d'ici deux à trois ans.

## Notes et références

- (1) NRBC pour risques nucléaire, radiologique, biologique et chimique.
- (2) www.brijot.com
- (3) Smiths Detection, www.smithsdetection.com
- (4) Sandia National Laboratories, www.sandia.gov
- (5) Scintrex Trace Corporation, www.tracedetection.com
- (6) www.nomadics.com
- [1] Furton K.G., Myers L.J., *Talanta*, **2001**, *54*, p. 487.
- [2] Czarnik A.W., *Nature*, **1998**, *394*, p. 417.
- [3] Weinstein S., Drozdenko R., Weinstein C., Third International Symposium on Analysis and Detection of Explosives, Mannheim-Neustein, Allemagne, **1989**, p. 32.31-32.32.
- [4] Lesnes C., *Le Monde*, 17-18 décembre **2006**, p. 20.
- [5] Wallis E., Griffin T.M., Popkie N., Eagan M.A., McAtee R.F., Vrazel D., McKinly J., *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, **2005**, *5795*, p. 54.
- [6] Tomita Y., Ho M.H., Guilbault G.G., *Anal. Chem.*, **1979**, *51*(9), p. 1475.
- [7] Rajakovic L.V., *J. Serb. Chem. Soc.*, **1991**, *56*(8-9), p. 521.
- [8] Kurosawa S., Kamo N., Matsui D., Kobatake Y., *Anal. Chem.*, **1990**, *62*(4), p. 353.
- [9] Pasquinet E., Bouvier C., Théry-Merland F., Hairault L., Leuret B., Méthivier C., Pradier C.-M., *J. Colloid. Interf. Sci.*, **2004**, *272*, p. 21.
- [10] Théry-Merland F., Méthivier C., Pasquinet E., Hairault L., Pradier C.M., *Sens. Actuators B*, **2006**, *114*, p. 223.
- [11] Montméat P., Madonia S., Pasquinet E., Hairault L., Gros C.P., Barbe J.-M., Guillard R., *IEEE Sens. J.*, **2005**, *5*(4), p. 610.
- [12] Théry-Merland F., Besnard S., Montméat P., Hairault L., *Techniques de l'Ingénieur*, **2005**, *6*, IN 33, p. 1.
- [13] Baldini F., Chester A. N., Homola, J., Martellucci S., *Optical Chemical Sensors*, NATO Science Series, Springer, Dordrecht, **2004**.
- [14] *Fluorescence Sensors and Biosensors*, R.B. Thompson (ed.), Taylor & Francis, CRC Press, Boca Raton, **2006**.
- [15] *Advanced Concepts in Fluorescence Sensing. Part A: Small Molecule Sensing* (vol. 9) in *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, C.D. Geddes, J.R. Lakowicz (eds.), Springer, New York, **2005**; *ibid Part B: Macromolecular Sensing* (vol. 10).
- [16] Thomas III S.W., Joly G.D., Swager T.M., *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, p. 1339.

- [17] Yang J.-S., Swager T.M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, p. 5321; *ibid* p. 11864.
- [18] Sohn H., Sailor M.J., Madge D., Troglor W.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, p. 3821.
- [19] Clavaguera S., *Conception, synthèse et caractérisation de matériaux fluorescents pour l'élaboration d'un capteur chimique d'explosifs*, Thèse de doctorat, Université de Montpellier, **2007**.
- [20] Hairault L., Pasquinet E., Montméat P., Moreau J., Lère-Porte J.-P., Wakim S., Serein-Spirau F., brevet FR 04 50719, 9 avril **2004**.



S. Clavaguera



C. Véron



F. Parret



P. Montméat



L. Hairault

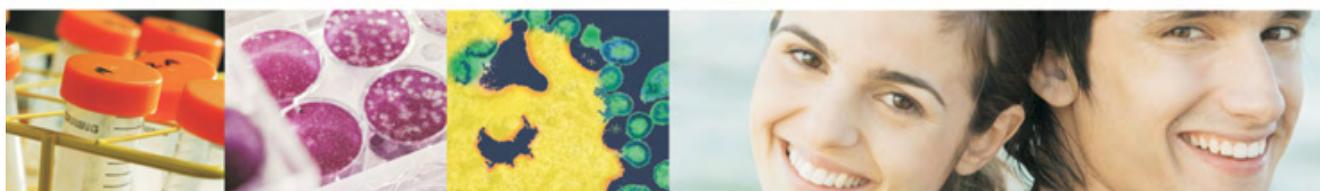
**Simon Clavaguera** a effectué sa thèse de doctorat au CEA Le Ripault et au laboratoire AM<sub>2</sub>N (Architectures moléculaires et matériaux nanostructurés) de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, et **Clément Véron** y a fait son stage d'IUT Mesures Physiques.

**Frédéric Parret** est post-doctorant, **Pierre Montméat** est ingénieur de recherche,

et **Lionel Hairault\*** (auteur correspondant) est chef du laboratoire physico-chimie au CEA Le Ripault.

**Jean-Pierre Lère-Porte** est professeur au laboratoire AM<sub>2</sub>N de l'ENSC Montpellier.

\* CEA Le Ripault, BP 16, 37260 Monts.  
Courriel : lionel.hairault@cea.fr



# IDENIX

Le siège du groupe Idenix est situé à Cambridge, Massachusetts, USA.  
Idenix a également une unité de Recherche et Développement à Montpellier, France,  
et une unité de Recherche à Cagliari, Italie.

# Les cryptates et leurs applications au domaine de la santé

Hervé Bazin

## Résumé

Les cryptants constituent une famille de composés polycycliques complexant des cations. En 1987, leur découverte et celle des éthers couronnes, qui ont ouvert la voie vers la chimie supramoléculaire, ont été couronnées par le prix Nobel de chimie décerné conjointement à Donald J. Cram, Jean-Marie Lehn et Charles J. Pedersen. Les molécules les plus couramment utilisées dans la chimie supramoléculaire sont définies dans cet article, ainsi que la nomenclature des éthers couronnes et des cryptants. Les cryptates, par leur caractère lipophile, permettent entre autres de « dissoudre » des sels minéraux dans un solvant organique anhydre. Les propriétés chimiques des contre-ions sont affectées, ce qui permet d'obtenir des ions très nucléophiles et de marquer ainsi au fluor 18 des molécules pour l'imagerie médicale. Les propriétés photophysiques des cations séquestrés sont profondément modifiées : ce phénomène est mis à profit dans les cryptates photoactifs complexant des ions lanthanides. Le processus de photosensibilisation des lanthanides par des groupes aromatiques ainsi que les techniques de fluorescence en temps résolu et de transfert d'énergie résonant (RET) sont décrits. Les cryptates sont ainsi des traceurs fluorescents utilisés dans le domaine du diagnostic médical (TRACE<sup>®</sup>) et la recherche pharmaceutique (HTRF<sup>®</sup>) pour le criblage de chimiothèques afin de découvrir de nouveaux médicaments.

## Mots-clés

**Criblage à haut débit, lanthanide, fluorescence en temps résolu, cryptates, radiofluorination.**

## Abstract

### Cryptates and their healthcare applications

Cryptands constitute a family of polycyclic compounds complexing cations. The 1987 Nobel Prize in chemistry was given to Donald J. Cram, Jean-Marie Lehn and Charles J. Pedersen for the discovery of cryptands and crown ethers, opening the path to supramolecular chemistry. In this article, the most used molecules in this chemistry will be defined as well as cryptands and crown ethers nomenclature. Due to their lipophilic character, cryptates allow to dissolve mineral salts in an anhydrous organic solvent. The chemical properties of the counter-ions are affected, allowing to obtain highly nucleophilic ions: this being used in the <sup>18</sup>F radiolabeling of molecules for medical imaging. The photophysical properties of the sequestered cations are deeply modified: this phenomenon is used in the photoactive cryptates complexing lanthanides ions. The photosensitivation process of lanthanides by aromatic groups as well as time resolved fluorescence and resonance energy transfer (RET) techniques will be described. Thus cryptates are fluorescent tracers used in the field of medical diagnostic (TRACE<sup>®</sup>) and in the pharmaceutical research (HTRF<sup>®</sup>) for the screening of chemical libraries for new drug discovery.

## Keywords

**High throughput screening, lanthanide, time-resolved fluorescence, cryptands, radiofluorination.**

Les composés d'inclusion forment une classe particulière de composés appartenant à une chimie supramoléculaire où l'hôte forme une cavité dans laquelle un second composé est localisé. Ils existent à l'état naturel ; en immunologie par exemple, l'anticorps joue le rôle de l'hôte et l'antigène représente l'invité. Dans les composés d'inclusion, il n'y a pas de liaisons covalentes entre l'hôte et l'invité. Ces édifices sont maintenus par des liaisons hydrogène, ioniques ou de type van der Waals. Les cryptates constituent une nouvelle classe de composés d'inclusion, le terme cryptant indiquant que le ligand<sup>(1)</sup> complexe un ion ou une molécule comme s'il était enfermé dans une crypte. Le terme cryptate est apparu pour la première fois dans deux articles se faisant suite [1] qui décrivent la formation d'un complexe entre un macrohétérocycle et un cation, ce complexe étant regardé comme un composé d'inclusion pour lequel le nom de cryptate est proposé. Était également décrit pour la première fois un diaza-polyoxa-macrobicycles qui sera ensuite nommé cryptant [2], et dénommé Krypofix<sup>™</sup> ultérieurement. Ce cryptant représente l'équivalent tridimensionnel d'un éther couronne, ces deux molécules étant les premiers membres

de toute une famille de molécules qui constituent les éléments de la chimie supramoléculaire.

Au fil des ans, la famille s'est constituée de « lariat éthers », calixarènes (en forme de vase – *calice* –, formés d'unités dérivées d'un phénol), cyclodextrines (polyosides cycliques), porphyrines (comme le noyau tétrapyrrolique de l'hémoglobine ou de la chlorophylle) et cucurbiturils (en forme de citrouille, formés d'unités glycoluril). Certains membres, comme les cucurbiturils, ont été synthétisés dès 1905 (par Behrend), mais leur structure réelle n'a été découverte que récemment. Certains, comme les éthers couronnes, ont été découverts involontairement [3] ; d'autres, comme la chlorophylle, sont présents dans la nature. D'autres encore peuvent paraître « exotiques », comme les caténanes (du latin *catena*, chaîne) formés de deux (ou plus) macrocycles entrelacés, ou les rotaxanes (du latin *rota*, roue, et *axis*, axe) formés d'un macrocycle traversé par un axe terminé par deux « bouchons » empêchant le macrocycle de s'échapper. Un exemple d'assemblage supramoléculaire (ou supermolécule) est rapporté par J.-M. Lehn [4] : il s'agit d'un complexe chimiquement bien défini de molécules

maintenues ensemble par des liaisons non covalentes. Leurs dimensions pouvant aller de quelques nanomètres à quelques micromètres, ils permettent d'accéder à des objets nanométriques en utilisant l'approche dite « bottom-up » (du bas vers le haut) qui nécessite moins d'étapes de synthèse que ce qu'il faudrait pour synthétiser une molécule de même taille par la synthèse organique traditionnelle. C'est une sorte de « meccano » utilisant des molécules comme pièces de base. Un cas « simple » mettant en jeu deux molécules est constitué par l'ADN, sous forme de double hélice, dont les deux brins sont maintenus par un ensemble de liaisons hydrogène, de force d'empilement et de liaisons ioniques stabilisées par des cations. Le processus par lequel les assemblages moléculaires se forment est appelé auto-assemblage ou auto-organisation : on le retrouve dans l'hybridation de deux brins d'ADN qui s'associent spontanément pour donner une nouvelle structure en forme d'hélice. Cette possibilité de former des nanostructures – telles que des nanofils, nanofibres, nanogrilles – par auto-assemblage offre de nouvelles ouvertures dans des domaines aussi variés que la médecine, l'électronique ou l'industrie textile. Nous nous limiterons ici aux applications des cryptates dans le domaine biomédical.

## Synthèse et nomenclature des éthers couronnes

Les éthers couronnes sont des composés hétérocycliques qui, dans leur forme la plus simple, sont des oligomères cycliques d'oxyde d'éthylène ; l'unité répétée étant le motif éthylèneoxy  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$  qui se répète deux fois dans le dioxane. Pour les homologues supérieurs, plutôt que d'utiliser leur nom systématique, on préfère une nomenclature simplifiée donnant le nombre d'atomes total dans le cycle et le nombre d'oxygènes. Ainsi le 1,4,7-trioxononane formé par trois unités éthylèneoxy possédant neuf sommets et trois oxygènes sera nommé 9-couronne-3 (« 9-crown-3 »). Des analogues de ces éthers couronnes dans lesquels deux des oxygènes sont remplacés par des atomes d'azote forment une famille de diaza-macrocycles. Par exemple, le 1,10-diaza-4,7,13,16-tétraoxooctadécane sera dénommé 1,10-diaza-18-couronne-6 ou plus simplement diaza-18-couronne-6 (cette dernière appellation étant ambiguë puisque plusieurs isomères sont possibles si les positions des azotes ne sont pas précisées). Dans le cas des diaza-macrocycles tels que le 1,10-diaza-18-couronne-6, on simplifie encore la nomenclature en notant le nombre d'éléments éthylèneoxy constituant chacune des deux branches reliant les azotes : il sera ainsi nommé [2.2] et nous verrons plus loin son utilité dans la nomenclature des cryptates.

Les éthers couronnes sont connus pour leur capacité à solvater fortement les cations. Les atomes d'oxygène sont idéalement situés pour se coordonner avec un cation à l'intérieur du macrocycle alors que l'extérieur de la couronne est hydrophobe ; le résultat est que le cation devient soluble dans les solvants non polaires. La taille de la cavité au milieu de la couronne détermine la taille du cation qu'elle peut solvater. Par exemple, le 18-couronne-6 possède une haute affinité pour l'ion potassium, le 15-couronne-5 pour le sodium et le 12-couronne-4 pour le lithium. En 1967, Pedersen découvrit une méthode simple pour synthétiser un éther couronne : alors qu'il désirait préparer un agent complexant des cations divalents à partir de catéchole, il fut surpris d'isoler un sous-produit capable de complexer un

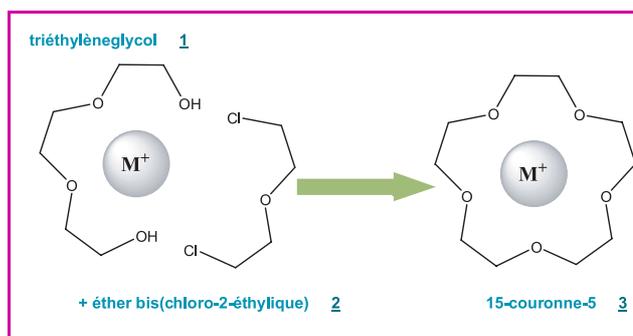


Figure 1 - Synthèse d'un éther couronne par macrocyclisation avec effet d'ion support.

ion, mais qui ne possédait pas de groupe hydroxyle ionisable [3]. Il réalisa que les polyéthers cycliques représentent une nouvelle classe d'agents complexants capable de lier les cations alcalins. Ce ne sont pas d'ailleurs les seuls ligands macrocycliques possédant une telle affinité : les ionophores comme la nonactine ou la valinomycine montrent une préférence pour l'ion potassium.

La synthèse des éthers couronnes peut être illustrée par la réaction de la figure 1 permettant d'obtenir le 15-couronne-5 à partir de triéthylèneglycol et d'éther bis(chloro-2-éthylrique) en présence de divers hydroxydes de métaux alcalins MOH [5]. Les rendements de cyclisation mettent en évidence un « effet de support » (« template effect ») par les cations adéquates, effet lié à la stabilité relative des complexes en fonction du rayon ionique de l'alcalin considéré. Dans ce cas particulier, la présence de l'ion alcalin  $M^+$  favorise la cyclisation au détriment d'une polymérisation, comme illustré dans le tableau I.

Tableau I - Rendement de la synthèse du 15-couronne-5 (3) en fonction du rayon ionique de l'ion support.

Hydroxyde	Rayon ionique (Å)	Rendement (%)
Lithium	0,78	4
<b>Sodium</b>	<b>0,98</b>	<b>39</b>
Potassium	1,33	20
Césium	1,65	12

Dans le cas plus général de la synthèse d'autres macrocycles possédant, par exemple, des fonctions amides, on utilise la méthode de haute dilution afin de favoriser la cyclisation au dépend de la polycondensation. L'idée de base appliquée à la synthèse d'amides cycliques est la suivante [6] : la cyclisation intramoléculaire est d'ordre 1 et sa vitesse est donc proportionnelle à la concentration, tandis que la condensation intermoléculaire est d'ordre 2 et sa vitesse proportionnelle au carré de la concentration. Par conséquent, une réaction en milieu dilué doit favoriser la cyclisation intramoléculaire. Ceci s'applique par exemple à la synthèse des analogues diaza- des éthers couronnes illustrée sur la figure 2 par la réaction entre le dichlorure de l'acide 3,6-dioxooctanedioïque 4 et le 1,8-diamino-3,6-dioxooctane 5. Le diamide macrocyclique est ainsi obtenu avec des rendements de 65-75 % [7]. La réduction des fonctions amides par action de l'hydrure d'aluminium et de lithium permet ensuite de générer les deux fonctions amines secondaires du diaza-macrocycle [2.2] désiré (6). Ces diaza-macrocycles sont des intermédiaires importants utilisés dans l'une des stratégies de synthèse de cryptants (figure 2).

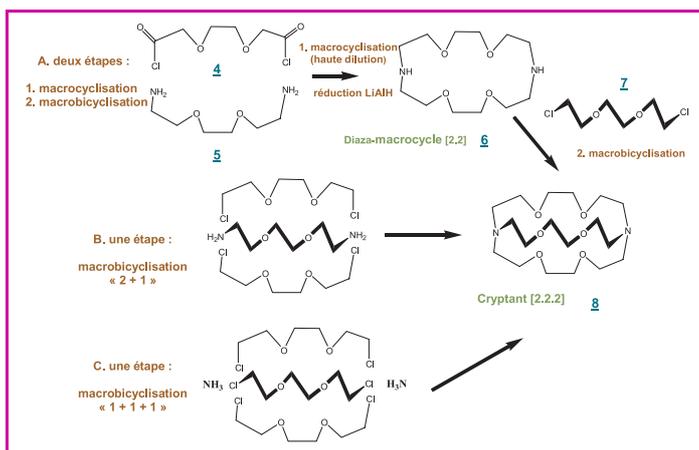


Figure 2 - Synthèses du diaza-macrocycle [2.2] (**6**) et du cryptant [2.2.2] (**8**) par les trois voies possibles : A) en deux étapes (macrocyclisation, macrobicyclisation), B) et C) en une seule étape (macrobicyclisation).

## Synthèse et nomenclature des cryptants

Les cryptants représentent une famille de ligands bi- et polycycliques multidentés liant une grande variété de cations [2] ; nous nous limiterons ici à la description des cryptants de structure diamine macrocycliques. L'un des plus communs et des plus utilisés est le cryptant de structure **8** de la *figure 2*, dont le nom recommandé par l'IUPAC<sup>(2)</sup> est 1,10-diaza-4,7,13,16,21,24-hexaoxabicyclo[8.8.8]hexacosane (pour la nomenclature officielle, voir note (3)). Par extension aux cryptants de la nomenclature exposée ci-dessus pour les macrocycles, ce composé sera nommé cryptant [2.2.2] pour indiquer le nombre d'atomes d'oxygène (et donc de sites de liaisons) dans chacune des « branches » reliant les deux azotes des amines têtes de ponts. Ce cryptant est commercialisé sous le nom de Kryptofix 222<sup>TM</sup>. Ces cryptants montrent une affinité particulière pour les cations des alcalins, ce qui permet d'isoler des sels de potassium [8]. Le complexe formé par fluorure de potassium et le cryptant [2.2.2] donne un cryptate qui sera noté  $K^+ \subset [2.2.2]$  ;  $F^-$ , le signe inclusion  $\subset$  montrant que le potassium est à l'intérieur de la cage. Le composé doit être considéré comme un sel formé d'un cation  $K^+ \subset [2.2.2]$  et de l'anion fluorure. La forte séparation des charges fait que l'ion fluorure se comporte comme un nucléophile dur, d'où l'utilisation de ces cryptates comme réactif dans les substitutions nucléophiles. Un autre cryptant à structure diamine macrobicyclique très utilisé est un cryptant photoactif (c'est-à-dire capable d'absorber la lumière grâce aux groupes aromatiques), qui possède trois unités 2,2-bipyridines (symbolisées par BP) reliées aux deux azotes têtes de pont par des méthylènes. Ce cryptant sert à former des cryptates de lanthanides [9]. Il existe trois voies pour synthétiser un cryptant (voir l'exemple du cryptant [2.2.2] *figure 2*).

## Synthèse des cryptates photoactifs

La synthèse des cryptates photoactifs se fait selon les mêmes stratégies que pour le cryptant [2.2.2] (voir *figure 2*, voie A en deux étapes). Dans l'exemple de la synthèse d'un cryptate tris-bipyridine **12** [9] (*figure 3*), on part d'un diaza-macrocycle [BP.BP] **9** formé de deux unités bipyridines pour effectuer une macrobicyclisation avec un dérivé di-bromométhyl-bipyridine **10**. Le carbonate de sodium sert ici à la fois de base et d'ion « matrice » et un cryptate de sodium

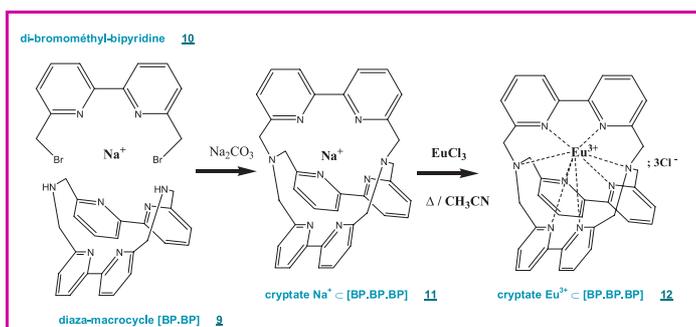


Figure 3 - Synthèse d'un cryptate photoactif de structure  $Eu^{3+} \subset [BP.BP.BP]$  (**12**).

Dans un but de simplification, le bras espaceur permettant de coupler le cryptate n'est pas représenté.

$Na^+ \subset [BP.BP.BP]$  (**11**) intermédiaire est obtenu. Comme souligné plus loin à propos de la structure des ions lanthanides, la taille de l'ion europium  $Eu^{3+}$  (1,12 Å) est à peine plus grande que celle de l'ion  $Na^+$  (0,98 Å) ; la substitution de  $Na^+$  par  $Eu^{3+}$  se fait donc assez facilement. Cet échange est favorisé en se plaçant dans un solvant aprotique (acétonitrile) dans lequel le chlorure d'europium anhydre présente une solubilité suffisante, et en chauffant pour favoriser la réaction. On obtient ainsi le cryptate  $Eu^{3+} \subset [BP.BP.BP]$  ;  $3 Cl^-$  (**12**) dans lequel l'ion  $Eu^{3+}$  est coordonné par les azotes du ligand. Pour nommer ce cryptate, on utilise la notation condensée  $Eu \subset TBP$  (TBP pour tris-bipyridine). La coordination étant plus forte qu'avec  $Na^+$  (ou un autre cation), la réaction inverse n'est pas possible, et l'ion  $Eu^{3+}$  est définitivement séquestré dans la cage. Des cryptates renfermant d'autres hétérocycles ont également été synthétisés [10].

D'un point de vue pratique, on recherche des structures possédant : une absorption maximum ( $\epsilon > 10\,000\ M^{-1}\cdot cm^{-1}$ ) aux longueurs d'ondes des sources pulsées (lampe flash : 300-320 nm ou laser à azote : 337 nm), un rendement quantique (rapport de l'énergie émise sur l'énergie absorbée) suffisamment élevé et une émission présentant une **durée de vie**<sup>(4)</sup> **longue** (ordre de la milliseconde), ainsi qu'une émission la plus monochromatique possible. On recherche de plus une **stabilité chimique** complète dans la gamme pH 1-12 ainsi qu'en présence d'ions divalents ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ...) et de complexants (citrate, phosphate, EDTA...), et une fonctionnalité permettant le greffage aux biomolécules d'intérêt.

## Application au radiomarquage du fluorodeoxyglucose par le fluor 18

Le fluorodeoxyglucose (FDG) marqué au  $^{18}F$  est un produit radiopharmaceutique actuellement très utilisé comme traceur dans l'imagerie fonctionnelle réalisée par la tomographie par émission de positon (TEP ou PET en anglais). Il émet des positons de faible énergie (635 KeV), ce qui limite la dose absorbée par le patient, et a une décroissance radioactive caractérisée par une demi-vie de 109,7 min, ce qui est juste assez long pour permettre une synthèse radiochimique (durées et nombre des étapes forcément limitants) et assez court pour que toute radioactivité ait disparu en quelques heures après l'injection.

L'affinité du cryptant [2.2.2] pour les sels de potassium est mise à profit pour concentrer les ions fluorures produits par irradiation de l'eau enrichie en oxygène 18, formant la cible d'un faisceau de protons produit par un cyclotron.

La première synthèse de 2-fluoro-2-deoxyglucose radiomarqué au fluor 18 ( $^{18}\text{F}$ -FDG) a été effectuée en 1976 par Wolf en utilisant une méthode de fluoration électrophile. L'addition de fluor  $^{18}\text{F}$ -F<sub>2</sub> sur un précurseur donnait un mélange d'isomères marqués au  $^{18}\text{F}$  ; le  $^{18}\text{F}$ -FDG était obtenu après séparation et hydrolyse acide. Le rendement de 8 % et le temps de synthèse de 2 h (soit environ une demi-vie pour le  $^{18}\text{F}$ ) constituaient de sérieuses limitations à la méthode ; cela permit néanmoins à l'hôpital de l'Université de Pennsylvanie de cartographier le métabolisme du glucose dans le cerveau humain. Une autre limitation majeure est que d'une part seulement 50 % du fluor radioactif peuvent être incorporés dans le précurseur, et que d'autre part, la réaction nucléaire permettant de produire le  $^{18}\text{F}_2$  nécessite l'ajout de fluor naturel et produit donc du  $^{18}\text{F}_2$  avec un rendement et une activité spécifique faibles (sans compter les difficultés techniques associées à un gaz radioactif et agressif !)

De nombreuses tentatives ont été faites pour développer une synthèse du FDG basée sur une substitution nucléophile. Les fluorures  $^{18}\text{F}^-$  peuvent en effet être produits avec un bien meilleur rendement et une plus haute activité spécifique par irradiation cyclotronique de l'eau enrichie en oxygène 18 ( $^{18}\text{O}$ -H<sub>2</sub>O). Un progrès majeur a été réalisé en 1986 par Hamacher *et coll.* [11] qui ont utilisé le Kryptofix 222<sup>TM</sup> comme catalyseur. Dans ces conditions, le rendement était supérieur à 50 % et le temps de réaction ramené à 50 min. Une réaction nucléophile (SN) implique l'arrivée d'un nucléophile (espèce chargée négativement) sur une molécule : le nucléophile forme ainsi une nouvelle liaison covalente avec le précurseur et déplace le groupe partant – notons que la stéréochimie (configuration) est changée dans le cas d'un centre chiral (*figure 4*).



Figure 4 - Substitution nucléophile SN<sub>2</sub> avec inversion de configuration.

Le nucléophile et le groupe partant X ont le même rang suivant les règles de priorité des substituants.

Dans la synthèse actuelle optimisée du  $^{18}\text{F}$ -FDG (*figure 5*), l'ion  $^{18}\text{F}^-$  est le nucléophile. Le précurseur **13** est un dérivé 1,3,4,6-tétra-O-acétylé du D-mannose portant en position 2 un groupe partant triflate (triflate = trifluorométhanesulfonate). En présence de cryptant [2.2.2] comme catalyseur et

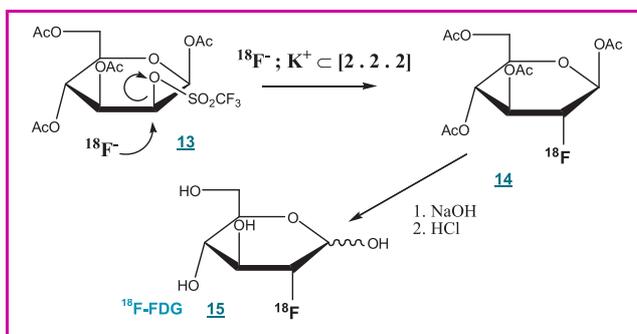


Figure 5 - Synthèse actuelle du  $^{18}\text{F}$ -FDG par substitution nucléophile de  $^{18}\text{F}^-$  sur un dérivé 1,3,4,6-tétra-O-acétylé du D-mannose (**13**) en présence de cryptate [2.2.2].

d'acétonitrile comme solvant, les ions fluorures ont un caractère particulièrement nucléophile, la charge négative étant très concentrée du fait que les ions sont « nus » (dans une solution aqueuse de fluorure de potassium, ils restent associés au cation sous forme de paires d'ions ; l'ensemble étant solvaté par des molécules d'eau, le caractère nucléophile est alors moins marqué). La substitution nucléophile du triflate par le fluorure sur le carbone 2 (chiral) se fait avec inversion de configuration : le nouveau composé formé (**14**) appartient donc à la série du D-glucose. Par saponification des acétates (NaOH) puis neutralisation (HCl), on obtient le  $^{18}\text{F}$ -FDG **15**.

Concrètement, l'acide fluorhydrique produit dans la cible ( $^{18}\text{O}$ -H<sub>2</sub>O) du cyclotron est neutralisé par du carbonate de potassium (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), formant du fluorure de potassium. L'ion potassium qui a un rayon Å est facilement complexé dans la cavité du Kryptofix 222<sup>TM</sup>.

Ces progrès dans la synthèse du fluorodeoxyglucose et dans l'automatisation de la production permettent ainsi de produire industriellement du FDG radiomarqué distribué journalièrement dans les centres hospitaliers. Ces examens permettent un diagnostic plus précoce de certains cancers. Notons également que c'est un outil de recherche qui a révolutionné notre connaissance dans le fonctionnement du cerveau et dans l'approche de désordres neurologiques. La plate-forme d'imagerie Neurospin (Institut d'Imagerie Biomédicale, I2BM) dans l'enceinte du centre CEA de Saclay, entièrement destinée à l'étude du cerveau humain, normal et malade, complète les installations existantes du service hospitalier Frédéric Joliot (CEA-DSV) à Orsay dédiées à l'imagerie radioisotopique TEP.

## Principe de l'utilisation du marquage luminescent au criblage

Les lanthanides (appelés plus communément « terres rares ») sont formés des quinze éléments allant du lanthane (N = 58) au lutétium (N = 71). Ils correspondent à un remplissage graduel de la couche formée par les électrons 4f, qui est elle-même blindée par la sous-couche externe 5s<sup>2</sup>5p<sup>6</sup> (cette couche étant complète). Ainsi, « vu de l'extérieur », les différents lanthanides sont chimiquement très semblables (et donc relativement difficiles à séparer les uns des autres) et leur rayon atomique diminue lorsque N augmente (contraction des lanthanides). Le rayon ionique décroît de l'ion La<sup>3+</sup> (1,21 Å) en passant par Eu<sup>3+</sup> (1,12 Å) et Tb<sup>3+</sup> (1,09 Å), jusqu'à Lu<sup>3+</sup> (1,03 Å), l'ion europium a ainsi une taille intermédiaire entre Na<sup>+</sup> (0,98 Å) et K<sup>+</sup> (1,33 Å).

Une autre conséquence du blindage par les couches externes leur confère des propriétés photophysiques remarquables, en particulier pour le terbium et l'europium. Les ions lanthanides montrent différents types de transitions électroniques, entre autres des transitions f-f dites « interdites », caractérisées par des coefficients d'absorption molaires souvent inférieurs à 1 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>. Les transitions sont représentées par des pics d'absorption fins. La plupart de ces ions sont luminescents, soit fluorescents (comme PrIII, NdIII, HoIII, ErIII et YbIII) ou phosphorescents (comme SmIII : orange ; EuIII : rouge ; GdIII qui émet dans l'UV ; TbIII : vert ; DyIII : jaune et TmIII : bleu). Leur émission couvre le spectre de l'UV au visible et jusqu'au proche infrarouge (de 0,3-2,2 μm) ; ils sont d'ailleurs utilisés comme phosphores trichromiques dans les écrans couleur. Leur excitation directe est très peu efficace, c'est pourquoi on utilise l'excitation indirecte (appelée sensibilisation ou effet d'antenne). Ce mode d'excitation se fait en trois étapes : 1) la lumière est

absorbée par un chromophore situé dans l'environnement immédiat de l'ion lanthanide au travers de ligands organiques (chromophores) ; 2) l'énergie est transférée sur un des états excités de l'ion ; 3) l'ion métallique émet de la lumière. Une multitude de ligands organiques portant des chromophores aromatiques tels que les groupes pyridine, bipyridine, terpyridine, quinoline substitués ont été étudiés. On peut décrire le phénomène comme un transfert de l'énergie ligand (S1) → ligand (T1) → Ln\*. Ce transfert peut être optimisé en ajustant la différence d'énergie entre le niveau triplet le plus bas du ligand (T1) et le niveau émissif du lanthanide (Ln\*) (pour plus de détails, voir [12]). Comme noté plus haut, certains lanthanides tels que le terbium (TbIII) ou l'euprium (EuIII) présentent un phénomène de phosphorescence caractérisé par une durée de vie<sup>(4)</sup> de l'ordre de 100 µs à quelques millisecondes – par définition, la phosphorescence implique une transition entre deux états se faisant avec changement de parité (par exemple triplet vers singulet). Les phénomènes de désexcitation radiative présentant une longue durée de vie de luminescence – ce qui nous intéresse pour l'utilisation comme marqueur luminescent – sont en compétition avec des phénomènes de désexcitation non radiative qui constituent autant de phénomènes provoquant une extinction de la fluorescence (« quenching »). Cette extinction est provoquée soit par interaction avec les molécules d'eau du solvant, soit par d'autres molécules présentes, par exemple des molécules biologiques (dans le cas où le milieu contient du sérum) ou des molécules synthétiques (cas général pour le criblage d'une chimiothèque).

Un cryptate photoactif permet d'encapsuler un ion lanthanide luminescent (dont l'excitation directe est très peu efficace en solution aqueuse) dans la cavité d'un cryptate formé de ligands organiques servant de chromophores (tels que des bipyridines) et de « blindage », afin de créer une supermolécule hybride possédant les propriétés d'absorption du ligand organique et les propriétés d'émission optimum du lanthanide considéré [9, 13]. La supériorité d'une telle structure par rapport à d'autres complexes de type chélatés étudiés antérieurement vient du fait que la structure cryptate permet, en grande partie, de soustraire l'ion lanthanide aux interactions avec le milieu, et donc de limiter les phénomènes d'extinction dus aux molécules d'eau. Cette protection est plus ou moins complète en fonction de la structure considérée (taille de la cage) et la présence d'ions fluorures permet de renforcer cette protection [14].

Les cryptates présentent également une stabilité totale (ce qui n'est généralement pas le cas des chélatés), même dans les conditions acides (pH 1 à 2) utilisées lors la purification des peptides synthétiques, ainsi qu'en présence de cations divalents (Ca<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) ou d'agents chélatants (EDTA, EGTA) classiquement utilisés dans les essais biochimiques.

### Principe de la mesure de fluorescence en temps résolu (TRF : « time resolved fluorescence »)

Les marqueurs fluorescents et luminescents sont théoriquement les systèmes les plus sensibles après les marqueurs radioactifs ; en revanche, un certain nombre de facteurs sont limitant quand aux applications pratiques :

#### • Le phénomène de « bruit de fond de fluorescence »

C'est l'émission parasite provenant des composants optiques de l'appareil de mesure ainsi que de la fluorescence du milieu lui-même. On essaie de limiter au maximum le premier facteur lié à l'appareil, mais la fluorescence parasite du milieu est par essence non contrôlable.

#### • La mesure en temps résolu

On peut s'affranchir de cette limitation en utilisant justement un marqueur luminescent tel qu'un complexe de lanthanide présentant une émission à longue durée de vie. Suite à une excitation pulsée, l'ensemble des molécules présentes dans le milieu émet, l'émission de fluorescence parasite (bruit) provenant du milieu disparaît rapidement dans les 100 µs qui succèdent l'excitation pulsée. En mesurant l'émission après un délai  $t_D$  de 50-100 µs, on mesure alors spécifiquement le signal du marqueur présentant une durée de vie longue (figure 6). Les molécules fluorescentes « classiques » présentant une durée de vie « courte », typiquement de l'ordre de quelques nanosecondes, elles ne sont pas détectables en temps résolu. On augmente ainsi considérablement le rapport signal/bruit et de ce fait, la sensibilité du dosage. Par exemple, si on ajoute à une solution de cryptate Eu c TBP (à une concentration nanomolaire donnant une émission  $I_{620} = 40\,000$  ufa) de la fluorescéine (à une concentration micromolaire donnant une émission  $I_{620} = 20\,000$  ufa), de façon à mimer un bruit de fond dû à la contribution d'un composé fortement fluorescent, une mesure en mode « fluorescence continue » donne effectivement un signal à 620 nm fortement pollué par la fluorescence de la fluorescéine. En faisant une mesure en temps résolu, après un délai de 50 µs, la fluorescence parasite est virtuellement totalement éliminée [15]. Il existe maintenant dans le commerce de nombreux fluorimètres permettant de faire des mesures en temps résolu dans des plaques de microtitration.

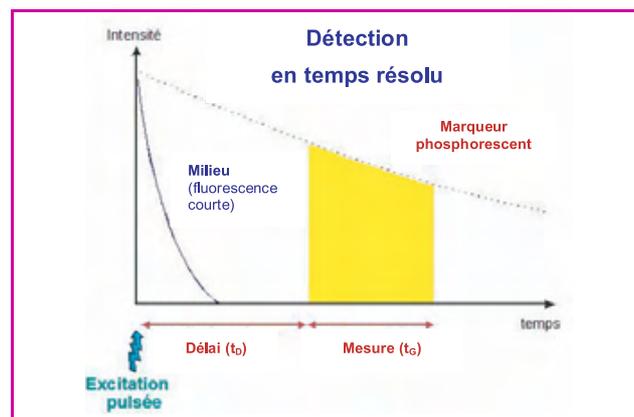


Figure 6 - Principe de la mesure de fluorescence en temps résolu.

### Principe du transfert d'énergie non radiatif (ou transfert d'énergie résonant)

Lorsqu'une molécule (ou un ion) se désexcite en émettant de la lumière, cette lumière peut être absorbée par une molécule présente dans le milieu : on parle alors de transfert trivial (ou radiatif) ; ce phénomène décroît en fonction de l'éloignement entre les molécules en suivant les lois de l'optique géométrique. Un autre phénomène découvert par Förster en 1948 consiste en un transfert non radiatif (ou résonant) entre la molécule (ou l'ion) excitée nommée donneur et une molécule nommée accepteur : dans ce cas, aucun photon n'est échangé ; il y a un couplage dipôle-dipôle entre les électrons des niveaux excités du donneur et les électrons de l'accepteur. Comparé au transfert trivial, ce phénomène décroît plus rapidement au travers de l'espace en suivant une loi en  $1/d^3$ . La gamme des distances impliquées étant du même ordre que la taille des macromolécules d'intérêt biologique, cette

technique nommée FRET (pour « Förster resonance energy transfert ») a de nombreuses applications et représente une technique de choix pour mesurer l'interaction entre biomolécules ainsi que les modifications de conformation (on trouvera plus de détails dans un excellent et récent ouvrage en français [16] ; voir également [17] pour des compléments concernant la fluorescence et la luminescence).

### Principe du TR-FRET et de la méthode HTRF®

Pour étudier l'interaction entre deux molécules, il existe des méthodes dites hétérogènes, c'est-à-dire utilisant une séparation physique. C'est par exemple le cas des méthodes de criblage des ligands de récepteurs : les récepteurs sont immobilisés sur un filtre, on incube dans un milieu contenant un ligand potentiel sous une forme « marquée », on lave le filtre pour éliminer l'excès de molécules marquées et on mesure le signal provenant du marqueur « lié ». Les méthodes hétérogènes ont l'inconvénient de perdre toute information sur les aspects cinétiques de l'interaction, justement à cause de l'étape de séparation.

En revanche, dans le cas de méthodes dites homogènes, les mesures se font directement dans le milieu, sans nécessiter de séparation physique des excès de molécules marquées. Il faut arriver à discriminer entre la fraction molaire de molécules marquées en interaction et l'excès des molécules marquées libres dans le milieu.

Dans la méthode HTRF® (« homogeneous time resolved fluorescence »), développée par CISbio dans les années 1990 [18-19], on marque l'une des biomolécules avec un donneur phosphorescent (cryptate d'euporium émettant vers 620 nm) et l'autre molécule avec un accepteur fluorescent. Si les molécules interagissent, de par leur proximité, il y a une possibilité de transfert non radiatif entre donneur et accepteur. Une partie de l'énergie étant transférée, la luminescence du donneur diminue légèrement et en contrepartie, on observe une émission de fluorescence de l'accepteur qui, dans ce cas particulier, se fait avec une durée de vie « longue » atypique de l'accepteur s'il est excité directement.

En choisissant bien l'accepteur, de façon à ce que sa longueur d'onde d'émission (665 nm) tombe dans une fenêtre où l'émission du donneur est négligeable, on peut détecter sélectivement (sélectivité spectrale) l'émission du donneur et celle de l'accepteur. Grâce à la mesure en temps résolu, on peut détecter sélectivement le signal provenant de l'accepteur lié (sélectivité temporelle).

### Les phénomènes de « filtre interne » et la parade

L'effet de filtre interne provient de l'absorption de la lumière d'excitation par les molécules présentes dans le milieu. Rappelons que pour une absorbance de 1, il n'y a plus que 10 % de la lumière incidente qui vont exciter les molécules, donc une perte de signal d'un facteur 10. Dans le cas d'un dosage réalisé à partir d'un milieu biologique tel qu'un sérum, l'absorbance (ou densité optique) résiduelle du milieu vers 300-350 nm (due principalement aux protéines dont l'absorbance maximum se situe vers 280 nm) est loin d'être négligeable. Dans le cas d'une application dans le domaine du criblage de chimiothèques, la diversité des molécules étant grande, la variabilité de leurs propriétés optiques est également grande et ce phénomène de filtre peut être encore plus limitant. Une façon de compenser cette absorption consiste à utiliser une source plus intense, d'où l'utilisation d'une excitation laser sur les appareils les plus performants. Mais la meilleure parade à ce phénomène, pour

compenser la variation de qualité optique du milieu, consiste non pas à mesurer directement une fluorescence, mais le **ratio** entre deux signaux de fluorescence. Les deux signaux étant affectés de la même façon par le milieu, ce ratio est indépendant du milieu [18-19].

### Les phénomènes d'extinction de fluorescence

Ces phénomènes ont pour effet d'éteindre la luminescence, soit en diminuant l'intensité, soit en diminuant la durée de vie de l'émission. Dans le cas des complexes d'euporium, ils proviennent soit de réactions redox entre l'ion euporium à son niveau excité et un réducteur présent dans le milieu, soit de phénomènes de transfert d'énergie entre l'état excité du cryptate et une molécule présente dans le milieu (la molécule possédant un recouvrement entre son spectre d'absorption et le spectre d'émission de l'euporium). Il est évident que dans le domaine du criblage de chimiothèques, la diversité des molécules fait que la probabilité qu'une de ces molécules interfère avec l'émission du marqueur est assez élevée ! Pour qu'une méthode de criblage soit robuste, il faut minimiser l'impact de ces interférences. Une des solutions est donc de protéger l'ion euporium dans la cavité d'un cryptate. Des réactifs, principalement destinés à l'industrie pharmaceutique, sont commercialisés par CISbio sous le nom HTRF® et sont utilisés pour la découverte de nouveaux médicaments.

### Application des cryptates d'euporium dans le domaine du criblage

#### Mise au point de nouveaux médicaments, chimiothèques et criblage à haut débit

On peut se représenter le processus de mise au point des médicaments comme un ensemble « d'idées » et de « cibles » qui pénètrent à une extrémité d'un pipeline et un médicament candidat, prêt pour les essais cliniques, qui en ressort à l'autre extrémité. La mise au point de médicaments, depuis l'identification de la cible jusqu'aux essais cliniques de phase I, peut se découper en sept jalons : 1) détermination de la cible biologique, 2) criblage à haut débit de chimiothèques et découverte initiale, 3) touches (hits), 4) tête de file (« leads compounds »), 5) médicament candidat aux essais précliniques, 6) médicament candidat aux essais cliniques et 7) essai de phase I. Les touches sont des structures qui présentent une activité *in vitro* dans l'essai initial utilisé en criblage ; les têtes de file présentent en plus une activité *in vivo*, une spécificité et un mode d'action établis et sont acceptables d'un point de vue pharmacologique. Il y a des moments critiques dans le processus où l'équipe doit décider de « continuer ou non » la mise au point du médicament. À ces moments, elle doit évaluer si la mise au point réussie du composé compensera les dépenses associées à la prochaine étape. Il peut s'écouler quinze ans entre la découverte d'une molécule jusqu'à l'homologation. L'obtention d'un seul médicament approuvé peut nécessiter la découverte initiale de 5 000 à 10 000 composés actifs possibles. Parmi ceux-ci, seuls 250 seront identifiés comme têtes de file candidates et feront l'objet d'essais précliniques. Finalement, cinq composés candidats pourront faire l'objet d'essais cliniques, et un seul sera approuvé !

La tendance actuelle dans le domaine du criblage à haut débit est d'utiliser des volumes de plus en plus petits en bénéficiant de réactifs et de technologies de pipetage et d'automatisation sophistiqués. Malgré son extension rapide, le criblage à haut débit est une méthode relativement nouvelle

pour l'industrie pharmaceutique. Les premières plaques de microtitration au format 384 puits ont été introduites en 1992 et les premières plaques de 1 536 puits en 1997. Le défi sera de voir jusqu'où on peut réduire les volumes des puits.

### Chimiothèques

Pour identifier des touches ou des têtes de file, il faut avoir accès à une grande variété de structures chimiques. On utilise une chimiothèque<sup>(5)</sup> où les composés sont dissous dans le DMSO et dilués à 10-100  $\mu\text{M}$  dans les puits immédiatement avant leur criblage. Il y a au moins trois grandes sources de composés chimiques diversifiés :

- **Les banques classiques de composés synthétiques ciblés** contiennent des composés bien définis dont le degré de complexité varie de relativement simple à très complexe. Ces composés sont souvent des intermédiaires dans la biosynthèse des cibles ou des analogues.
- **Les banques combinatoires de composés synthétiques** peuvent générer un grand nombre de composés. La structure ciblée est fondée sur la facilité de synthèse et est relativement simple.
- **Les banques de produits naturels** renferment des structures complexes non transformées par l'imagination humaine. Ces composés ont évolué dans la nature pour atteindre des cibles protéiques d'origine naturelle ; environ 50 % des médicaments existant et des médicaments en train d'être mis au point sont issus de produits naturels.

### Un exemple d'essai HTRF<sup>®</sup> : le criblage des inhibiteurs de protéases

Il existe actuellement deux types de médicaments homologués de structure peptidique issus du criblage à haut débit : un inhibiteur de la protéase de HIV-1 (pour le traitement du sida) et un inhibiteur d'une enzyme impliquée dans la biosynthèse de l'angiotensine (pour le traitement de l'hypertension), ainsi qu'une dizaine de molécules (phases précliniques, phase II ou III) ciblant des affections telles que rhume, hépatites, cancers, arthrite et troubles de la coagulation, d'où l'intérêt porté à ces molécules peptidiques. Compte tenu du délai nécessaire aux études cliniques, entre la validation d'une molécule et son homologation, il est probable que le nombre de médicaments basés sur des structures peptidiques ou peptido-mimétiques va aller en augmentant.

L'exemple qui suit (*figure 7*) présente un essai permettant un criblage de chimiothèques dans le but de découvrir des inhibiteurs de protéases au travers de la technique HTRF<sup>®</sup> et des kits développés par CISbio. On utilise un peptide synthétique doublement marqué<sup>(6)</sup> portant à son extrémité N-terminale un cryptate d'europlum et à l'extrémité C-terminale un accepteur fluorescent à 665 nm. En l'absence d'activité protéase, le peptide intact portant le donneur (cryptate) et l'accepteur, il y a transfert d'énergie non radiatif du cryptate vers l'accepteur ; la luminescence du cryptate est alors moins intense et l'énergie transférée sur l'accepteur est réémise par celui-ci sous la forme d'une émission à 665 nm présentant une durée de vie longue. Sous l'action d'une protéase, le peptide étant coupé, le transfert d'énergie ne peut plus avoir lieu ; la luminescence nominale du cryptate à 620 nm est alors maximale et l'accepteur n'émet plus du tout de fluorescence à 665 nm. En présence d'un inhibiteur de l'activité protéase, l'intégrité du peptide étant maintenu, l'émission à 665 nm présentant une durée de vie longue est observée, démontrant la présence d'un effet inhibiteur sur l'enzyme.

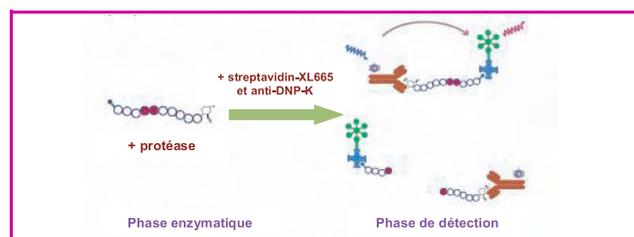


Figure 7 - Schéma d'un bio-essai utilisé pour le criblage des inhibiteurs de protéases.

Par action d'une protéase, le peptide est coupé ; il n'y a pas de FRET et seul le donneur (cryptate luminescent) émet sa luminescence à 620 nm. Si un inhibiteur de protéase est présent, le peptide reste intact ; il existe donc un FRET entre le donneur et l'accepteur fluorescent qui émet alors un signal à 665 nm présentant une longue durée de vie.

L'industrie pharmaceutique recherche maintenant une façon de produire des touches en utilisant des technologies et des essais qui soient plus physiologiques que ceux utilisés précédemment dans le processus de criblage, ceci afin de mimer au plus près les mécanismes qui auront lieu *in vivo*. Un domaine qui bénéficierait de ces techniques est le criblage fonctionnel des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR), et principalement les voies impliquant Gq/Gi, qui sont actuellement assez souvent explorées, au travers d'une mesure des flux calciques. Dans des conditions plus physiologiques, ces mesures permettraient de réduire le nombre des faux positifs et des artefacts créés par ces méthodes actuelles. Des essais HTRF<sup>®</sup> ont également été développés dans le but de doser des métabolites (cAMP, IP-1) impliqués dans les voies de signalisation après stimulation de récepteurs membranaires puis lyse des cellules [20]. Il est possible d'utiliser la technique HTRF<sup>®</sup> en combinaison avec des cellules vivantes ayant subi une transfection permettant de faire exprimer par exemple des récepteurs membranaires recombinants (récepteurs au GABA) présentant une séquence de reconnaissance (tag). On utilise alors des cryptates pyridine-bis-bipyridine moins sensibles à l'extinction de fluorescence, même en absence d'ions fluorures. On peut alors visualiser directement les interactions entre des protéines de surface des cellules vivantes [20]. Cette approche innovante permettant d'améliorer l'étude des complexes protéiques membranaires impliqués dans les communications intercellulaires continue à être développée à l'Institut de génomique fonctionnelle de Montpellier. Elle permet maintenant de marquer directement, de façon unique, quantitative et spécifique, des récepteurs membranaires recombinants comportant un fragment protéique nommé SNAP-TAG, et cela à la surface de cellules vivantes. Le SNAP-TAG possède une activité enzymatique dite « suicide » qui fait que son substrat, un dérivé O-benzyl-guanine, provoque l'alkylation d'une cystéine du site actif. Si le substrat O-benzyl-guanine porte un marqueur fluorescent sur le groupe benzyle, il y aura transfert du marqueur fluorescent et donc formation d'une liaison covalente entre la protéine et ce marqueur. Par un « double marquage » de deux récepteurs, on peut observer un transfert d'énergie non radiatif du cryptate porté par un des récepteurs vers l'accepteur porté par un deuxième récepteur, lorsque ces deux récepteurs dimérisent [21].

### Application des cryptates dans le domaine du diagnostic médical au travers de TRACE<sup>®</sup>

TRACE<sup>®</sup> (« time resolved amplified cryptate emission ») est le principe de mesure utilisé dans les kits



Figure 8 - Lecteur Kryptor® pour les immunodosages TRACE® utilisant un cryptate d'euporium.

d'immunodiagnostic commercialisés par BRAHMS au travers de l'instrument Kryptor® (figure 8) qui mesure le signal émis à partir d'un immunocomplexe en phase homogène<sup>(7)</sup>. La base de la technologie TRACE® est également un transfert d'énergie non radiatif entre un cryptate d'euporium et un accepteur émettant à 665 nm. La proximité du donneur et de l'accepteur dans la formation d'un immunocomplexe autorise le transfert d'énergie et l'apparition d'un signal à 665 nm (de longue durée de vie) qui est proportionnel à la concentration de la substance analysée [22]. Kryptor®<sup>(7)</sup> permettant une mesure en temps réel à double longueur d'onde, une mesure ratiométrique permet ici aussi de corriger les fluctuations de signal dues au milieu biologique (sérum), les propriétés optiques (absorption, fluorescence parasite, turbidité) pouvant être très variables d'un échantillon à l'autre.

## Conclusion

Concernant les applications aux marquages radioisotopiques, le cryptate utilisé actuellement donne entièrement satisfaction. Les évolutions viendront du développement de nouveaux précurseurs permettant l'incorporation du fluor par voie nucléophile dans des synthèses utilisant actuellement une réaction électrophile ; on attend ainsi une augmentation du rendement radiochimique. Les applications au domaine de l'imagerie pourraient bénéficier de futurs cryptates d'ytterbium possédant une émission dans le proche infrarouge dans une fenêtre où l'absorption par l'hémoglobine est minimum. Les applications au criblage à haut débit et au diagnostic pourraient bénéficier de nouveaux cryptates possédant un chromophore adapté au terbium et pouvant, en théorie, donner des complexes avec des rendements quantiques plus élevés. La synthèse de nouveaux complexes présentant un bruit de fond encore plus réduit et une brillance plus élevée permettrait de repousser les limites dans la miniaturisation ainsi que dans la sensibilité des bio-essais et des immunoessais. Il est également possible d'utiliser des cryptates pour réaliser des récepteurs spécifiques [23] permettant la détection de molécules organiques (aminoacides ou diacides du métabolisme) ou d'ions minéraux, par une réponse électrochimique ou lumineuse. Ainsi récemment une molécule associant un cryptate de néodyme et un éther couronne [24] a montré une modulation de l'émission (proche infrarouge) du néodyme en fonction de la liaison d'un ion baryum sur l'éther couronne adjacent.

## Notes et références

- (1) En chimie, un *ligand* est un atome, ion ou molécule qui généralement donne un ou plus de ses électrons au travers d'une liaison de coordination, ou partage ses électrons par une liaison covalente avec un (ou plusieurs) atome ou ion central (le ligand joue le rôle d'une base de Lewis). Peu d'exemples existent où la situation est inversée.
- (2) IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry.
- (3) "Ring systems" : [www.chem.qmul.ac.uk/iupac/class/rings.html](http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/class/rings.html) ; "Crown" et "cryptand" : [www.chem.qmul.ac.uk/iupac/gtpoc/CoCy.html#34](http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/gtpoc/CoCy.html#34)
- (4) *Durée de vie de luminescence* : temps  $\tau$  au bout duquel l'intensité de l'émission initiale  $I_0$  est divisée par  $e$ , la base des logarithmes népériens. La décroissance de l'intensité suit une loi en général mono-exponentielle :  $I = I_0 e^{-t/\tau}$
- (5) Les organismes de recherche publique se sont regroupés pour créer la chimiothèque nationale ; voir <http://chimiotheque-nationale.enscm.fr>
- (6) Pour plus de détails, voir [www.htrf.com/technology/htrftheory/tr\\_basics](http://www.htrf.com/technology/htrftheory/tr_basics)
- (7) Pour plus de détails, voir [www.cezanne.fr](http://www.cezanne.fr)
- [1] Dietrich B., Lehn J.-M., Sauvage J.-P., Diaza-polyoxa-macrocycles et macrobicycles, *Tetrahedron Lett.*, **1969**, *34*, p. 2885 ; *ibid*, Cryptates, p. 2889.
- [2] Dietrich B., Cryptands, *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, **1996**, *1*, p. 153.
- [3] Pedersen C.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, p. 7017.
- [4] Lehn J.-M., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, *35*, p. 1838.
- [5] Bowsher B.R., Rest A.J., The use of alkali metal hydroxides in the template synthesis of 15-crown-5, *Inorg. Chim. Acta*, **1980**, *45*, p. L5.
- [6] a) Ruggli P., *Ann.*, **1912**, *302*, p. 92 ; b) Rossa L., Vögtle F., *Topics in Current Chem.*, **1983**, *113*, p. 1.
- [7] a) Dietrich B., Lehn J.-M., Sauvage J.-P., Diaza-polyoxa-macrocycles et macrobicycles, *Tetrahedron Lett.*, **1969**, *10*, p. 2885 ; b) Dietrich B., Lehn J.-M., Sauvage J.-P., Blanzat J., Cryptates X: Synthèses et propriétés physiques de systèmes diaza-polyoxa-macrocycliques, *Tetrahedron*, **1973**, *29*, p. 1639.
- [8] Kim J., Ichimura A.S., Huang R.H., Redko M., Phillips R.C., Jackson J.E., Dye J.L., Crystalline salts of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> (alkalides) that are stable at room temperature, *J. of the Amer. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, p. 10666.
- [9] Alpha B., Lehn J.-M., Mathis G., Energy transfer luminescence of Europium(III) and Terbium(III) cryptates of macrobicyclic polypyridine ligands, *Angew. Chem. Int. Ed. in Engl.*, **1987**, *26*, p. 266.
- [10] Lehn J.-M., Regnouf de Vains J.-B., Synthesis of macrobicyclic cryptates incorporating bithiazole, bisimidazole and bipyrimidine binding subunits, *Tetrahedron Lett.*, **1989**, *30*, p. 2209.
- [11] Hamacher K., Coenen H.H., Stöcklin G., Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[<sup>18</sup>F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopoly-ether supported nucleophilic substitution, *J. Nucl. Med.*, **1986**, *27*, p. 235.
- [12] Bünzli J.-C.G., Piguet C., Taking advantage of luminescent lanthanide ions, *Chem. Soc. Rev.*, **2005**, *34*, p. 1048.
- [13] Alpha B., Ballardini R., Balzani V., Lehn J.-M., Perathoner S., Sabbatini N., Antenna effect in luminescent lanthanide cryptates - a photophysical study, *Photochemistry and Photobiology*, **1990**, *52*, p. 299.
- [14] Mathis G., Dumont C., Jolu E.J.-P., Procédé de réduction d'interférences dans un dosage par fluorescence WO/1992/001224, **1992**.
- [15] Kennedy M.E., Wang W., Song L., Lee J., Zhang L., Wong G., Wang L., Parker E., Measuring human beta-secretase (BACE1) activity using homogeneous time-resolved fluorescence, *Anal. Biochem.*, **2003**, *319*, p. 49.
- [16] Valeur B., *Initiation à la fluorescence moléculaire*, De Boeck Université, **2004**, p. 65.
- [17] Des notions sur la fluorescence sont disponibles dans *L'Act. Chim.* n° 271 (janv. **2004**), p. 36, Travaux pratiques de base pour une formation expérimentale à la fluorescence moléculaire, par M. Aubailly. Des informations complémentaires concernant la luminescence sont disponibles dans le numéro « La photochimie pour mieux vivre », n° 308-309 (mai-juin **2007**), et plus particulièrement dans l'article de B. Moine : Les luminophores pour l'éclairage fluorescent, p. 101.
- [18] Mathis G., Rare earth cryptates and homogeneous fluoroimmunoassays with human sera, *Clin. Chem.*, **1993**, *39*, p. 1953.
- [19] Mabile M., Mathis G., Jolu E.J.-P., Pouyat D., Dumont C., Correction en temps réel par mesure du ratio pour minimiser les interférences provenant du milieu, US patent 5,527,684, **1996**.
- [20] Maurel D., Kniazeff J., Mathis G., Trinquet E., Pin J.-P., Ansanay H., Cell surface detection of membrane protein interaction with homogeneous time-resolved fluorescence resonance energy transfer technology, *Anal. Biochem.*, **2004**, *329*, p. 253.
- [21] Maurel D., Comps-Agrar L., Brock C., Rives M.-L., Bourrier E., Akli Ayoub M., Bazin H., Tinel N., Durroux T., Prézéau L., Trinquet E., Pin J.-P., Cell-surface protein-protein interaction analysis with time-resolved FRET and snap-tag technologies: application to GPCR oligomerization, *Nature Methods*, **2008**, *5*, p. 561.
- [22] Mathis G., Socquet F., Viguier M., Darboret B., Homogeneous immunoassays using rare earth cryptates and time resolved fluorescence: principles and specific advantages for tumor markers, *Anticancer Res.*, **1997**, *17*, p. 3011.
- [23] Amendola V., Bonizzoni M., Esteban-Gomez D., Fabbrizzi L., Licchelli M., Sancenon F., Taglietti A., Some guidelines for the design of anion receptors, *Coordination Chem. Rev.*, **2006**, *250*, p. 1451.
- [24] Coldwell J.B., Felton C.E., Harding L.P., Moon R., Pope S.J., Rice C.R., Barium induced modulation of NIR emission in a neodymium cryptate complex, *Chem. Commun.*, **2006**, *48*, p. 5048.



### Hervé Bazin

est expert scientifique, service recherche et développement, chez CIS bio international\*.

\* CIS bio international, BP 84 175, 30204 Bagnols-sur-Cèze Cedex.  
Courriel : [hbazin@cisbio.com](mailto:hbazin@cisbio.com)  
[www.htrf.com](http://www.htrf.com)

# Étude et caractérisation du minerai plomb/zinc

## Essais d'enrichissement par flottation

Leila Mahtout, Djoudi Merabet et Pierre Gaudon

**Résumé** Le gisement plomb-zinc d'Amizour est l'un des plus grands gisements d'Algérie. Sa minéralisation est constituée principalement de galène, de sphalérite et de certains éléments en faibles proportions tels que cadmium, thallium et cuivre. Les analyses effectuées par diverses méthodes physico-chimiques ont permis de déterminer la composition minéralogique et chimique de ce minerai. Puis des essais d'enrichissement par flottation de la sphalérite ont démontré la possibilité d'éliminer la pyrite et d'extraire le zinc avec un rendement favorable.

**Mots-clés** **Gisement, sphalérite, galène, diffraction des rayons X, microscopie électronique à balayage, MEB, flottation, zinc.**

**Abstract** **Characterization of a lead-zinc deposit and zinc enrichment by flotation**  
The Amizour lead-zinc deposit is considered as one of the largest polymetallic deposit in Algeria. Its mineralization is mainly constituted by galena, sphalerite and some elements in small proportions as cadmium, thallium and copper. The analyses made by various physico-chemical methods permitted to determine the mineralogical and chemical composition of this ore. The sphalerite flotation showed that the zinc enrichment at a good concentration is favourable despite the abundant presence of pyrite.

**Keywords** **Lead-zinc mineral deposit, sphalerite, X ray diffraction, scanning electron microscopy, SEM, flotation, zinc.**

Le zinc est le troisième métal non ferreux produit dans le monde après l'aluminium et le cuivre [1]. En Algérie, sa production devance celle du mercure mais demeure néanmoins insuffisante. Pour y remédier, d'énormes investissements dans la recherche et le développement minier ont été consentis. La découverte de nouveaux gisements, tel celui d'Amizour dans le nord du pays (figure 1), est une perspective pour couvrir les besoins du pays. Ce gisement, qui fait l'objet de notre étude, est l'une des plus grandes réserves naturelles en zinc et en plomb d'Algérie ; il couvre une superficie d'environ 70 km<sup>2</sup> [2]. Sa composition minéralogique principale se caractérise par la

sphalérite (blende<sup>(1)</sup>) et la galène, avec comme éléments secondaires le cadmium, le cuivre et le thallium.

Cette étude a pour but de réaliser des essais de flottation<sup>(2)</sup> sur le minerai afin d'obtenir des concentrés répondant aux critères de sélection exigés par l'industrie des métaux purs et aux recommandations de la littérature [3-4]. La première partie est consacrée aux résultats des analyses physico-chimiques des échantillons représentatifs du minerai et des essais de flottation de la blende (sphalérite). Elle est suivie de la caractérisation des concentrés, obtenue après l'opération de flottation subie par le minerai brut.

### Analyse minéralogique et chimique

L'analyse des surfaces polies au microscope optique de type Leitz muni d'une caméra permettant la prise de photos a montré la présence de différents minéraux tels que la galène (figure 2a), de couleur blanche, caractérisée par les arrachements triangulaires, la pyrite, de couleur jaune, la blende,

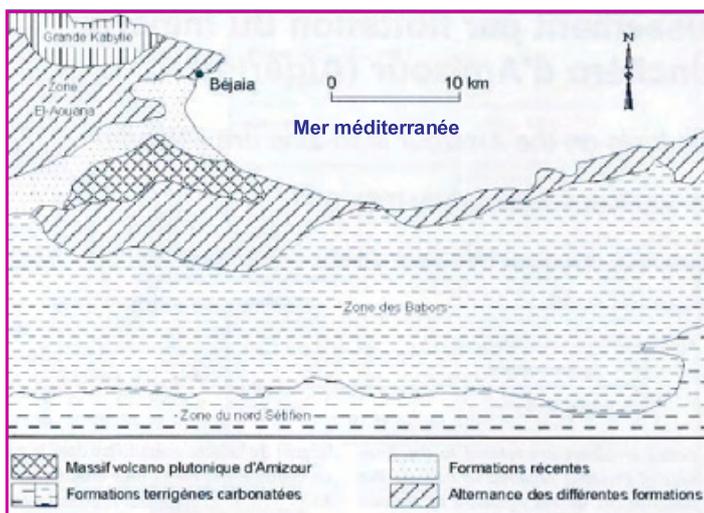


Figure 1 - Position du massif Amizour dans le contexte structural du Nord algérien.

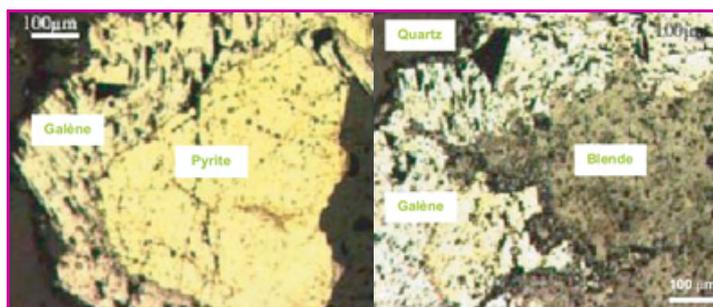


Figure 2 - Association de (a) galène et pyrite ; (b) blende, galène et quartz.

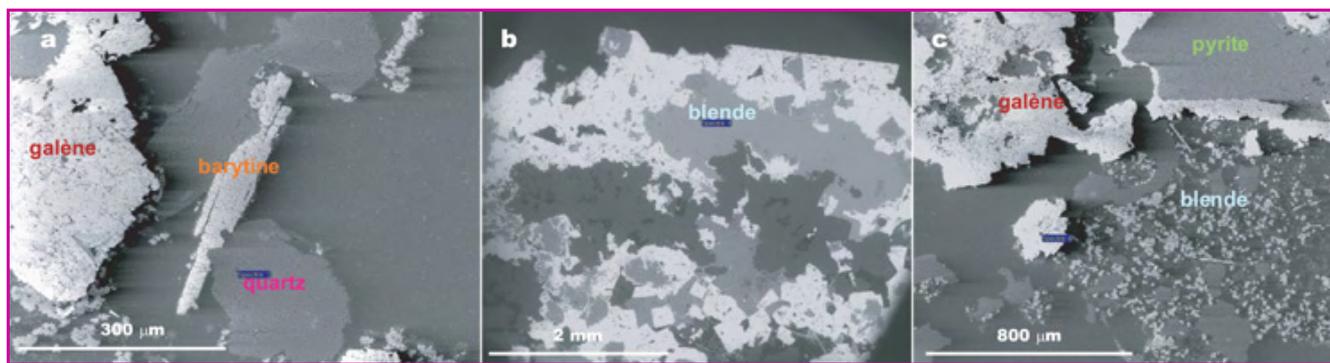


Figure 3 - Vues au MEB : a) micrographie du minerai montrant l'association de galène, barytine et quartz ; b) vue de la blende sous forme de taches volumineuses ; c) l'enrobage de la pyrite par la galène et les grains fins de la blende.

de couleur gris clair (figure 2b) et les minéraux de la gangue. Ces résultats ont été confirmés par la microanalyse effectuée au microscope électronique à balayage (MEB) (FEI, Quanta 200F, type Oxford), qui montre du quartz, de la barytine et de la galène (figure 3a). Des taches volumineuses et des grains fins de blende (sphalérite) sont identifiés au MEB (figures 3b et 3c). La figure 3c montre également l'enrobage de la pyrite par la galène. Le spectre électronique de la blende est représenté figure 4. On observe dans ce minerai la présence de différents éléments comme le titane, le cadmium et le cuivre.

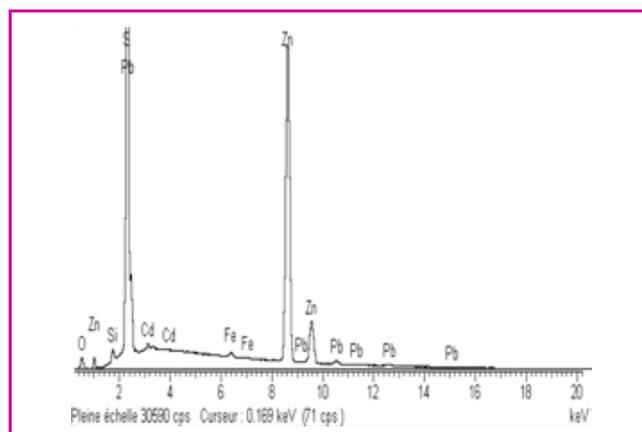


Figure 4 - Spectre électronique de la blende.

La poudre minérale de l'échantillon représentatif analysée par diffraction des rayons X (Bruker, modèle D8, tube Cu,  $\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$ ) montre l'ensemble des phases minérales qui constituent le minerai. La figure 5 montre le pic principal de la sphalérite (blende) à  $28,5^\circ$ , ainsi qu'un second pic de très faible intensité correspondant à la galène. Ce dernier est masqué par le pic intense de la calcite à  $29,5^\circ$  ainsi que d'autres pics relatifs aux minéraux de la gangue.

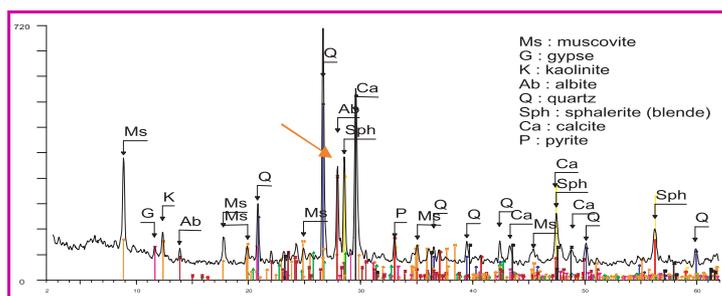


Figure 5 - Spectre de diffraction des rayons X d'un échantillon représentatif (minerai Pb/Zn).

## Essais de flottation et caractérisation des concentrés obtenus

Les essais de flottation de la poudre minérale broyée à  $100 \mu\text{m}$  à différentes valeurs de pH ont été effectués au sein de notre laboratoire en présence d'isobutyl xanthate de potassium, utilisé essentiellement pour la flottation des sulfures (sphalérite) [5-7], de sulfate de cuivre comme activant [8] de la blende et de chaux pour déprimer la pyrite. Le tableau I montre les résultats (teneurs et taux de récupération) de la flottation de la blende, en fonction du pH déterminé par spectrométrie d'absorption atomique. Les teneurs en zinc et les rendements de récupération obtenus sont très importants à pH 10. Cependant, l'enrichissement de la sphalérite (blende) est faible en milieu acide.

Tableau I - Teneurs et rendements de récupération en zinc des concentrés de flottation, en fonction du pH.

pH	Teneur moyenne en zinc (%)		Taux de récupération R (%)
	Alimentation	Concentré	
6,4	8,63	22,48	57,13
8	9,8	25,50	51,00
10	9,25	39,1	70,48
11,6	9,63	26,5	71,00

Le spectre de diffraction X relatif au concentré obtenu à pH 10 (figure 6) confirme les résultats d'analyse chimique. On note en effet la présence d'un pic principal très intense de réflexion attribué à la blende, avec cependant l'apparition des autres pics de réflexion de faibles intensités relatifs à la pyrite.

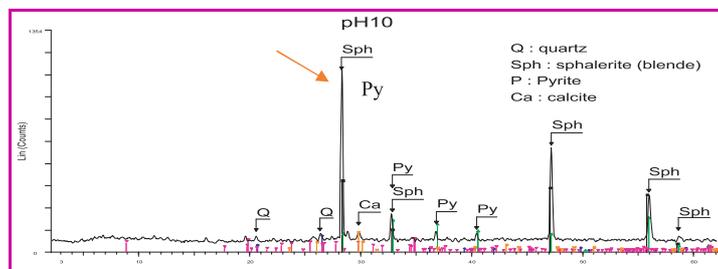


Figure 6 - Spectre de diffraction X du concentré de blende obtenu à pH 10.

Par ailleurs, les spectres de diffraction X correspondant aux concentrés obtenus à pH 8, 10 et 11,6 montrent essentiellement des pics très intenses de sphalérite, plus

particulièrement pour le concentré obtenu à pH 10. Le pic de réflexion de la galène (situé à 29,5°) est très faible, masqué par celui de la calcite. Par contre, les pics relatifs à la pyrite sont relativement importants. On constate également la présence de quartz et de kaolinite dans le concentré obtenu à pH 11,6 [9-10].

L'analyse semi-quantitative réalisée par fluorescence X des poudres minérales du concentré de flottation à pH 10 (tableau II) donne un rapport moyen de l'ordre  $Zn/Fe = 1,60$ , confirmant ainsi les données de l'analyse par diffraction X.

Tableau II - Analyse chimique du concentré obtenu à pH 10.

Élément	Fe	Zn	Si	Pb
Teneurs (%)	21,20	35,12	2,67	2,5

La réalisation d'un essai d'épuration sur les concentrés obtenus à différents pH permet d'obtenir un concentré renfermant très peu de pyrite et de galène, mais avec un enrichissement très important en zinc. L'analyse semi-quantitative par fluorescence X donne une teneur en zinc de 47 %, résultat confirmé par spectrométrie d'absorption atomique.

Des analyses thermogravimétriques ont été réalisées sur les concentrés à pH 10 et 11,6 et sur le concentré épuré [10]. Les résultats indiquent qu'à pH 10, il existe une perte de masse de 8 % dans l'intervalle de température 426-541 °C, attribuée à l'oxydation de la pyrite [11], et une perte de masse de 10 % entre 586-731 °C, attribuée à l'oxydation de la blende. Les résultats du thermogramme obtenus sur le concentré épuré [10] révèlent une perte de masse de 2 % dans l'intervalle de température 449-504 °C (oxydation de la pyrite résiduelle) et une perte de masse de 13 % entre 630-731 °C, attribuée à l'oxydation de la blende [11].

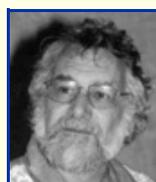
## Conclusion

Les observations au microscope optique et MEB couplés à l'analyse X nous ont permis d'identifier les différents éléments contenus dans le minerai tout venant. Le spectre de diffraction X a identifié l'ensemble des phases minérales contenues dans le minerai. Le concentré de blende obtenu à pH 10 renferme très peu de matière non valorisable, excepté la pyrite, avec un enrichissement très important en blende (teneur 39 % en zinc avec un taux de récupération de 72 %). L'essai d'épuration (flottation) nous a permis d'obtenir un rendement d'enrichissement en zinc atteignant une teneur maximale estimée à 47 % et d'éliminer la pyrite contenue dans le concentré précédent. Ces résultats sont prometteurs et par conséquent, le procédé de flottation mis au point peut

être appliqué au gisement étudié en vue de l'extraction du zinc.

## Notes et références

- (1) Sulfure de zinc, la **blende** est également appelée sphalérite. Elle présente de nombreuses couleurs selon les quantités de fer, de manganèse, de cadmium ou de gallium qu'elle contient dans son réseau cristallin.
- (2) La **flottation** est un procédé permettant de séparer des éléments solides en suspension dans un liquide, en fonction de leur différence de densité. Cette méthode est particulièrement bien adaptée à la séparation des minéraux sulfurés (blende, galène, chalcopryite, pyrite...) et des oxydes (barytine, fluorine, oxydes de fer...).
- [1] Yates E.M., Foster R.B., Zinc, sulfur, minerals production, *Min. J.*, **1995**, 196, p. 39.
- [2] Saverov V., *Rapport sur les résultats des travaux de recherche, Évaluation du gisement d'Oued Amizour*, O.R.G.M., Algérie, **1993**.
- [3] Blazy P., *Valorisation des minerais*, PUF Paris, **1970**, p. 249.
- [4] Bezzi N., Merabet D., Valorisation et enrichissement par flottation du minerai de phosphate de Bled El Hadba (Algérie), *Ann. Chim. Sci. Mat.*, **2005**, 30(2), p. 171.
- [5] Baldwin D.A., Funch J.A., Studies on flotation of sulfides, the effect of  $Cu^{++}$  on the flotation of zinc sulfide, *Int. J. Min. Process.*, **1979**, 5, p. 173.
- [6] Gun B., Pulp chemistry in sulphide mineral flotation, *Int. J. of Process.*, **1991**, 33(1-4), p. 1.
- [7] Bounouala M., Merabet D., Bacouche M., Caractérisation du minerai sulfuré de Chaabet El Hamra en vue d'un enrichissement par flottation, *Ann. Chim. Sci. Mat.*, **2000**, 25, p. 635.
- [8] Blazy P., Jdid E., Flottation - Aspects pratiques, *Techniques de l'Ingénieur*, **2000**, J3360.
- [9] Merabet D., Mahtout L., Essais d'enrichissement par flottation du minerai plombo-zincifère d'Amizour (Algérie), *Chronique de la Recherche Minière*, **1999**, 535, p. 59.
- [10] Mahtout L., Gaudon P., *Caractérisation des concentrés de flottation*, Rapport de stage CMGD, École des mines d'Alès, mars **2006**.
- [11] Charrier J., Contribution à l'étude de la décomposition des minerais sulfurés dans l'air par l'analyse thermique pondérale, *Annales de la Faculté des Sciences de Toulouse*, **1954**, tome 18, p. 97.



P. Gaudon

**Leila Mahtout** (auteur correspondant) est doctorante, et **Djoudi Merabet**, directeur de recherche, au Laboratoire de Technologie des matériaux et génie des procédés (LTMGP), Université A. Mira-Béjaïa (Algérie)\*.

**Pierre Gaudon** est enseignant-chercheur au Centre des Matériaux de Grande Diffusion, École des Mines d'Alès\*\*.

\* Laboratoire de Technologie des matériaux et génie des procédés (LTMGP), Faculté des Sciences et des Sciences de l'Ingénieur, Université A. Mira-Béjaïa 06000 (Algérie).

Courriel : mahtoutleila@yahoo.fr

\*\* Centre des Matériaux de Grande Diffusion, Laboratoire GERM, École des Mines d'Alès, 6 avenue de Clavières, 30319 Alès Cedex.

Courriel : pierre.gaudon@ema.fr

## « Comment ça marche ? »

Agroalimentaire, carburants, colles, cosmétiques, matériaux, peintures, pharmacie, produits d'entretien...

**La rubrique de L'Actualité Chimique qui répond à vos questions sur la chimie de votre quotidien.**

Proposez-nous vos sujets, vos projets d'articles...

Coordinatrice de la rubrique : Véronique Nardello-Rataj (Université de Lille)

Courriel : veronique.rataj@univ-lille1.fr - Tél./fax : 03 20 33 63 69.



# Chimie et automobile

Gilbert Schorsch

## Une initiative à poursuivre

Pour leur manifestation annuelle, les responsables de l'Unafic (Union nationale des associations françaises d'ingénieurs chimistes) avaient retenu d'associer la chimie et l'automobile. De nos jours, ces deux industries sont, à l'image de Janus, à double face : autant contestées par leurs effets négatifs – sur l'environnement ou la sécurité des usagers – que remerciées pour leurs contributions effectives à la santé de nos économies, au confort et à la liberté de nos concitoyens.

Fort opportunément, les organisateurs du débat avaient fait appel à Jean-Martin Folz, président de PSA Peugeot-Citroën jusqu'en 2007. Son parcours professionnel le prédestinait à introduire cette confrontation (voir encadré). De plus, son récent départ à la retraite lui assurait une liberté de parole, très rafraîchissante.

### Jean-Martin Folz : un dirigeant de terrain



Polytechnicien, ingénieur au Corps des Mines, J.-M. Folz débute sa carrière à la direction régionale de l'industrie de Haute-Normandie, puis dans plusieurs cabinets ministériels. Il rejoint Rhône-Poulenc, comme directeur de l'usine de Saint-Fons-Polymères, puis il est appelé au siège du groupe, en charge des Spécialités chimiques – latex, silicones et terres rares entre autres, pour citer la gamme de produits les plus représentatifs.

Après la nationalisation de Rhône-Poulenc et le départ de Jean Gandois, il quitte le groupe et devient successivement président-directeur général de Jeumont-Schneider, directeur général de Péchiney, puis directeur général de Eridania-Béghin-Say. En 1995, il rejoint le groupe PSA Peugeot-Citroën dont il devient président en 1997.

Attirés par « l'affiche », environ 150 membres de l'association étaient venus pour écouter le conférencier. Fort judicieusement, celui-ci avait retenu de scruter l'automobile à l'aune du développement durable, à l'utilisation du véhicule en particulier. Cet angle d'attaque lui a permis de rappeler les principales contributions de la chimie au développement de l'automobile, d'indiquer aussi aux chimistes les défis posés à l'industrie automobile, confrontée à la raréfaction des carburants fossiles.

Le débat qui s'en suivit a été animé. Les chimistes, en conducteurs avertis, étaient curieux de scruter ensemble l'évolution future de leur véhicule. La diversité des parcours des participants – universitaires ou industriels, en activité ou à la retraite – a contribué à l'intérêt de la soirée.

## L'automobile : « un convertisseur d'énergie sur pneus » ... plus ou moins polluant

L'exposé introductif, très technique et bien documenté, a contribué à un échange très varié avec la salle. Tentons de résumer la soirée autour des idées essentielles.

En présentant l'automobile comme un convertisseur d'énergie, une petite usine mobile, J.-M. Folz a d'emblée signifié qu'il tenait à situer son exposé sur un plan strictement technique. À l'origine, moteur thermique et moteur électrique étaient en concurrence. C'est grâce à ses avantages techniques, qui perdurent, que le moteur à explosion s'est imposé rapidement. Non sans poser, à présent, des problèmes planétaires liés au CO<sub>2</sub>, gaz à effet de serre responsable du réchauffement climatique.

En France, le secteur des transports est responsable de 34 % des rejets de CO<sub>2</sub>, les seuls véhicules particuliers de 52 % de ces émissions, soit 94 millions de tonnes par an ! Sans compter les autres polluants : imbrûlés, NO<sub>x</sub>, particules, entre autres. Dans chacun de ces deux domaines, la chimie participe à la dépollution.

## Les apports reconnus de la chimie à l'industrie automobile

### Matières plastiques : une solution toujours d'actualité pour économiser du carburant

Depuis une trentaine d'années, les matières plastiques ont participé activement à l'allègement des véhicules : 75 kg de polypropylène sont transformés en pièces pour équiper une 307 ! Compte tenu du nombre de voitures vendues et de la diversité des pièces (voir encadré p. 32), Peugeot achète annuellement 600 000 tonnes de pièces en matières plastiques.

Cette course à la réduction de poids est continue.

Elle se poursuivra car il reste de la marge : pondéralement, la quantité de métaux dans une voiture reste trois fois et demie plus importante que celle des matières plastiques !

Les pièces de structure, la tôle de la caisse, le bloc-moteur sont et resteront métalliques ! Les matières plastiques souffrent cependant d'un handicap certain à cause de la difficulté de leur tri et de leur recyclage, quel que soit le procédé, démontage ou broyage.



## L'automobile en quelques chiffres

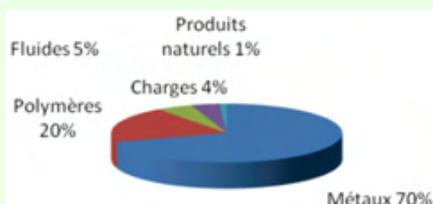
Véhicules (particuliers, voitures légères).

### Données économiques

<b>Marché mondial</b> Actuel 2030	<b>Ventes annuelles</b> 70 millions 100 millions
<b>Parc mondial</b> Actuel 2030	700 millions 1 500 millions
<b>Renouvellement en Europe</b> Âge moyen des véhicules Durée de vie	7 ans 13 ans

### Données techniques

Répartitions en poids des matériaux utilisés en France pour la construction d'un véhicule de gamme moyenne (308, C4, Mégane...) :



<b>MÉTAUX</b> dont acier autres	60 % 10 % (Al, Cu, Pb...)
<b>POLYMÈRES</b> <b>dont thermoplastiques :</b> - pour matériaux de structure  - pour réservoirs  <b>dont élastomères :</b> - pour courroies, joints, durites... - pour colles, adhésifs, mastics, peintures...	<b>exemples :</b>  PP tableaux de bord, calandres... PU mousses de structure et de confort PMMA/PC vitrage PE réservoirs à essence PA eau de refroidissement  polybutènes, silicones... latex, silicones...
<b>FLUIDES</b> - pour liquide de freins - pour eau de refroidissement moteur et pour climatisation	polyéthylèneglycols glycols...
<b>CHARGES</b> <b>dont charges de renforcement pour élastomères</b> - pour optimiser le compromis résistance au roulement/sécurité du pneu <b>dont charges de dilution pour thermoplastiques</b> - pour optimiser le compromis module/résistance au choc	noir de carbone, silice  talc, CO <sub>3</sub> Ca...
<b>PRODUITS NATURELS</b>	cuir, textiles pour sièges

### Moteurs thermiques : optimisation de la combustion et de la dépollution des gaz d'échappement

L'oxydation des hydrocarbures dans la chambre de combustion d'un moteur thermique traditionnel est « par essence » une réaction chimique. Elle dépend de la nature du combustible et des conditions de cette combustion. Elle contribue au rendement du moteur thermique, et vise à

minimiser les imbrûlés. Cette « chimie dans la flamme » reste du domaine privilégié – et quelque peu secret – des motoristes.

Les chimistes ont été associés davantage aux améliorations des technologies de dépollution, au développement des pots catalytiques en particulier. Parmi les réalisations les plus pointues dues aux chimistes, J.-M. Folz a rappelé les voies de réduction – au double sens du mot – des NO<sub>x</sub>.

Les équipes de PSA ont été les premières au monde à mettre sur le marché des voitures équipées d'un filtre à particules alors que leur PDG avait suivi le développement, lorsqu'il était responsable chez Rhône-Poulenc des terres rares, du projet « Diesel propre » : l'addition de CeO<sub>2</sub> au gazole permet d'abaisser la température d'auto-inflammation des particules du filtre, et de régénérer ainsi ce dernier.

### Quelles réponses « chimiques » aux problèmes techniques du futur ?

#### Moteur thermique du futur : quel combustible ?

L'augmentation du coût des carburants et la raréfaction à terme du pétrole ont posé depuis quelques années le problème de l'évolution de la nature du combustible. Les biocarburants produits à partir d'agroressources renouvelables – éthanol produit à partir de céréales, de betteraves ou de canne à sucre et esters d'huiles végétales – furent les premières solutions proposées, avec souvent des subventions publiques. Compte tenu de la concurrence inopportune de ces productions avec des cultures vivrières, l'avenir paraît être aux biocarburants de 2<sup>e</sup> génération produits à partir de biomasse spécifique.

De toute façon, il ne paraît pas envisageable que les biocarburants remplacent intégralement les hydrocarbures d'origine fossile. Au demeurant, la substitution intégrale des carburants pétroliers impliquerait au moins dans le cas essence/éthanol une adaptation complète des moteurs. Le mélange des biocarburants avec des hydrocarbures, dans une proportion à optimiser, dessine la solution d'avenir la plus probable.

Pour l'avenir, certes encore lointain, l'hydrogène et les piles à combustible constituent en apparence la solution idéale pour éliminer totalement les rejets de CO<sub>2</sub>, pour autant que l'on sache produire l'hydrogène sans émettre de gaz carbonique !!! Malgré le nombre et la qualité des consortiums qui travaillent sur les « piles à combustible » du futur, les problèmes de sécurité liés au stockage et à la manipulation de l'hydrogène constituent un obstacle très important à leur développement dans l'automobile.

#### Moteurs électriques : chargement des batteries ou échange au garage ?

Malgré un bien meilleur rendement, le moteur électrique, longtemps en concurrence avec le moteur à explosion à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle et au début du XX<sup>e</sup>, a progressivement disparu, pour faire une timide réapparition à la fin des années 90. PSA Peugeot-Citroën est au demeurant le constructeur automobile qui a construit et vendu le plus grand nombre de voitures électriques au cours des quinze dernières années. Passons sur un problème certes de confort mais néanmoins important – comment chauffer l'habitacle lorsque l'on ne dispose pas de la chaleur des gaz d'échappement sans



La Prius de Toyota avec gros plan sur son moteur hybride, précurseur de la nouvelle génération de véhicules automobiles.

prélever une part sensible de l'énergie des batteries ? – pour évoquer les deux problèmes majeurs de la voiture électrique :

- D'abord celui du stockage de l'énergie électrochimique et de l'autonomie du véhicule qui en résulte. Il est bien connu du grand public. Certes la capacité de stockage des batteries a fait des progrès – de 30 à 150-200 Wh/kg entre la batterie au plomb et la batterie Li-polymère actuelle, en passant par les batteries Ni/Cd et Ni/MeH à 50-65 Wh/kg. Mais comparé aux 12 000 Wh/kg de l'essence, le rapport est de 60 au mieux ! En tenant compte du rendement du moteur (90 % pour un moteur électrique contre 30 % environ pour le thermique), ce rapport tombe à 20, à l'avantage du moteur thermique. Il reste donc du pain sur la planche – ou plutôt sur la paille – des électrochimistes.

- À cette faiblesse de stockage de la batterie se rajoute une autre, pas toujours signalée dans la presse non spécialisée : le débit de remplissage. Le conférencier l'a résumée par la question suivante : « *L'automobiliste qui peut aller de Paris à Dijon en 3 heures de route sans se presser acceptera-t-il de rester pendant 6 heures à Auxerre pour charger sa batterie ?* » En effet, le débit de remplissage minimal d'une pompe à essence est de 10 L/min, c'est-à-dire une puissance de 6 MW. La puissance de charge actuelle d'une batterie dans une station professionnelle se situe à 50 kW. Le rapport des débits de remplissage est donc de 120, ou de 40 en tenant compte des rendements des moteurs ; il faut donc 40 fois plus de temps dans le meilleur des cas pour faire le « plein » d'un véhicule électrique.

En conséquence, compte tenu des limitations des batteries actuelles – autonomie de 150-200 km et une durée de charge de 6 h –, la seule solution acceptable serait non pas un chargement des batteries mais un échange de

celles-ci à la station, ce qui suppose la mise en place des infrastructures nécessaires. À moins que les chimistes ne trouvent rapidement des solutions aux limitations de capacité et de débit de charge des batteries actuelles ?

Rappelons aussi que l'avantage du moteur électrique en matière de pollution ne s'exprime pleinement que si l'énergie électrique nécessaire ne fait pas appel à une combustion de matières fossiles !

### La solution de demain : le véhicule hybride rechargeable

Les données techniques présentées et discutées lors de la soirée justifient la solution la mieux adaptée à la situation technique actuelle : le véhicule hybride rechargeable. Cette technologie, combinant les avantages d'un véhicule électrique à batterie avec ceux d'un véhicule hybride de première génération, constituera un véritable progrès environnemental par rapport aux hybrides actuels comme la Prius de Toyota.

Pour conclure, espérons que les difficultés actuelles de l'industrie automobile ne freineront pas trop ces développements futurs.



#### Gilbert Schorsch

est chargé de la rubrique « Industrie » de *L'Actualité Chimique*\*.

\* 250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris.  
Courriel : cgschorsch@aol.com



### Prix La Recherche 2009

#### Appel à candidatures

Pour la 6<sup>e</sup> année, le concours international francophone de l'excellence scientifique est lancé. Depuis 2004, ce prix, ouvert à toutes les disciplines scientifiques, est destiné à valoriser la recherche fondamentale ou appliquée et encourage la pluridisciplinarité et la francophonie. Chaque lauréat ou équipe lauréate recevra 10 000 € et verra ses travaux communiqués au grand public par le biais d'une publication au sein du magazine *La Recherche*.  
Date limite de dépôt des dossiers : **31 mai 2009**.

• [www.leprixlarecherche.com](http://www.leprixlarecherche.com)

# Chimie de coordination des actinides

## Vers les frontières du tableau périodique

Christophe Den Auwer, Philippe Moisy et Éric Simoni

**Résumé** Les éléments actinides forment une famille chimique distincte dans le bas du tableau périodique. Leur numéro atomique élevé ainsi que leur radioactivité sont deux des caractéristiques majeures de ces quatorze éléments. La chimie des actinides, dont l'essor au XX<sup>e</sup> siècle est en lien direct avec les événements qui ont parsemé l'histoire contemporaine, joue un rôle considérable aujourd'hui. L'énergie en est l'enjeu majeur, et la maîtrise des cycles énergétiques le principal défi. Dans cette introduction à la chimie des actinides, qui se veut essentiellement pédagogique, les auteurs comparent leurs propriétés physico-chimiques à celles de deux autres grandes familles des éléments du tableau périodique : les lanthanides et les métaux de transition. Cette présentation, centrée sur la chimie moléculaire et la chimie des solutions aqueuses, est un condensé de notes de cours qui soulignent la richesse de la chimie des actinides, une chimie relativement ouverte aux avancées de la science moderne, car vieille d'un siècle seulement.

**Mots-clés** Radiochimie, actinides, sciences nucléaires.

**Abstract** **Actinide coordination chemistry: towards the limits of the periodic table** Actinide elements represent a distinct chemical family at the bottom of the periodic table. Among the major characteristics of this 14 element family is their high atomic numbers and their radioactivity. Actinide chemistry finds its roots in the history of the XX<sup>th</sup> century and plays a very important role in our contemporary world. Energetic as well as technical challenges are facing the development of nuclear energy. In this pedagogical introduction to actinide chemistry, the authors draw a comparison between the actinides family and the chemistry of two other families, lanthanides and transition metals. This article focuses on molecular and aqueous chemistry. It has been based on class notes aiming to present an overview of the chemical diversity of actinides, and its future challenges for modern science.

**Keywords** Radiochemistry, actinides, nuclear science.

### Une découverte du XX<sup>e</sup> siècle

Il est bien souvent admis que le mythe fondateur de la chimie des « éléments rayonnants » (nous précisons ce terme au cours de l'article) se situe en ce mois de février 1896 au cours duquel Henri Becquerel, physicien membre de l'Académie des sciences, rapporte ses résultats concernant les mystérieux rayonnements de sels d'uranium. Depuis cette date, et en fait depuis la découverte des rayons X par Wilhelm Conrad Röntgen l'année précédente, jusqu'à la décennie d'après-guerre (pour schématiser), la chimie des éléments rayonnants – encore appelés radioéléments – a connu un essor considérable, concomitant avec les énormes progrès de la physique atomique et quantique [1]. C'est certainement dès 1898, avec les travaux de Pierre et Marie Curie – dont l'aura publique dépasse largement le cadre purement scientifique –, que la chimie des radioéléments, la radiochimie, prend son essor et devient une discipline à part entière. Il s'agit donc véritablement d'une science du XX<sup>e</sup> siècle qui bénéficiera d'une formidable émulation internationale remarquablement concentrée dans le temps et aux enjeux dramatiquement stratégiques à la veille de la Seconde Guerre mondiale. Au cœur de ces études, liées à la stratégie militaire jusqu'à un passé récent, mais également et surtout liées à la production d'énergie pour le présent et le futur, la chimie des éléments actinides\* (les actinides pour simplifier) revêt un caractère particulier et peut être considérée comme le principal domaine de recherche de la radiochimie. L'objectif de cet

article est de dresser un portrait succinct mais pédagogique de la chimie de ces éléments.

Alors qu'il serait outrageusement ambitieux de broser ici un historique complet de cette aventure de l'atome, certaines étapes clés méritent cependant d'être soulignées à des fins pédagogiques et dans le but de montrer comment les découvertes d'un groupe relativement limité de chercheurs ont pu être à l'origine d'un développement technologique et stratégique majeur. Les ouvrages cités en

#### Glossaire

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

**Actinides** : famille de 14 éléments du tableau périodique correspondant au remplissage des électrons 5f.

**Champ cristallin** : interaction électrostatique entre les électrons de valence et la charge électrique portée par les ligands.

**EXAFS** (« extended X-ray absorption fine structure ») : technique d'analyse de spectrométrie d'absorption des rayons X qui utilise principalement le rayon synchrotron.

**Isotopes** : noyaux de même numéro atomique mais dont le nombre de neutrons diffère.

**Polyèdre de coordination** : forme géométrique définie par l'ensemble des atomes donneurs des ligands présents en première sphère autour du cation métallique.

**Radiolyse** : dissociation des molécules d'eau sous l'action de rayonnement ionisant.

**Raman** : spectroscopie vibrationnelle en régime Raman.



lanthanides, 5f pour les actinides) présentent une faible extension radiale et sont ainsi protégées des interactions avec les ligands par les couches saturées  $5s^2$  et  $5p^6$  pour les lanthanides et  $6s^2$  et  $6p^6$  pour les actinides. Par conséquent, ces électrons nf n'interagissent que faiblement avec les électrons des ligands voisins et leurs propriétés électroniques sont très peu affectées par l'environnement. Cependant, il existe une différence importante entre les deux séries : les orbitales 4f sont beaucoup plus localisées que les orbitales 5f, pouvant ainsi être considérées comme des orbitales de cœur. Cette faible extension des électrons 4f explique parfaitement que le degré d'oxydation des lanthanides est principalement +III. *A contrario*, les électrons 5f, moins localisés, participent un peu plus à la liaison chimique et les interactions entre les électrons 5f et les ligands sont plus importantes que dans le cas des lanthanides. Plus précisément, cette relative délocalisation est significative pour les éléments de la première moitié des actinides, du protactinium à l'américium. En effet pour ces derniers, les énergies des orbitales 5f, 6d, 7s et 7p sont suffisamment proches pour s'hybrider, rendant possible un recouvrement spatial entre celles-ci et les orbitales de valence des ligands. Il est ainsi souvent difficile de distinguer le caractère ionique ou covalent de ce type de liaison. Cela a pour principale conséquence une multiplicité des degrés d'oxydation (de +II à +VII) et donc des propriétés d'oxydoréduction complexes et variées, qui apparente nettement plus ces éléments aux métaux de transition qu'aux lanthanides (figure 1).

De plus, dans la série, l'augmentation du numéro atomique  $Z$  induit une attraction coulombienne qui stabilise les orbitales 5f. Celle-ci est responsable de la diminution relativement régulière de la taille des ions actinides le long de la série, avec l'augmentation de  $Z$  (contraction actinidique). Les électrons 5f étant de plus en plus localisés, ils interagissent moins avec l'environnement et le comportement chimique des éléments au-delà de l'américium devient plus proche de celui des lanthanides.

Un point important est à souligner, concernant les effets relativistes (effet correctif à une description classique du cortège électronique), conséquence de la valeur importante du numéro atomique de ces actinides ( $Z > 90$ ). Les corrections relativistes sur la structure électronique de ces éléments (autre que le couplage spin-orbite) sont issues des effets directs (dus à la « variation de masse » des électrons, s'accompagnant d'une stabilisation énergétique) et des effets indirects, dont on doit tenir compte pour les électrons de valence 5f, même si leur vitesse moyenne n'est pas proche de celle de la lumière. La conséquence la plus notable, pour un noyau de charge élevée, est la contraction de la distribution de charge (le « rayon de l'orbitale » diminue lorsque la « masse » de l'électron augmente avec sa vitesse), d'autant plus significative pour les couches à faible moment angulaire. Les orbitales de cœur, qui présentent une amplitude importante près du noyau, se contractent et voient leur énergie se stabiliser. En revanche, les orbitales d ou f, plus diffuses, ne s'approchent pas autant du noyau et sont donc peu sensibles à cet effet direct. Cependant, comme les électrons de cœur écrantent la charge nucléaire, le potentiel résultant, agissant sur les électrons de valence 5f, est moins attractif. Ces effets – dits indirects – s'opposant aux effets directs, il est souvent difficile de prédire les conséquences de la prise en compte des corrections relativistes. Toutefois, pour les couches de haut moment angulaire, comme la sous-couche 5f, la contribution des effets indirects, dus à

la redistribution de charge, semble la plus importante. L'extension radiale de ces orbitales sera donc légèrement plus grande, compte tenu de ces corrections relativistes. Les énergies de liaison associées seront, dans ce cas, plus élevées.

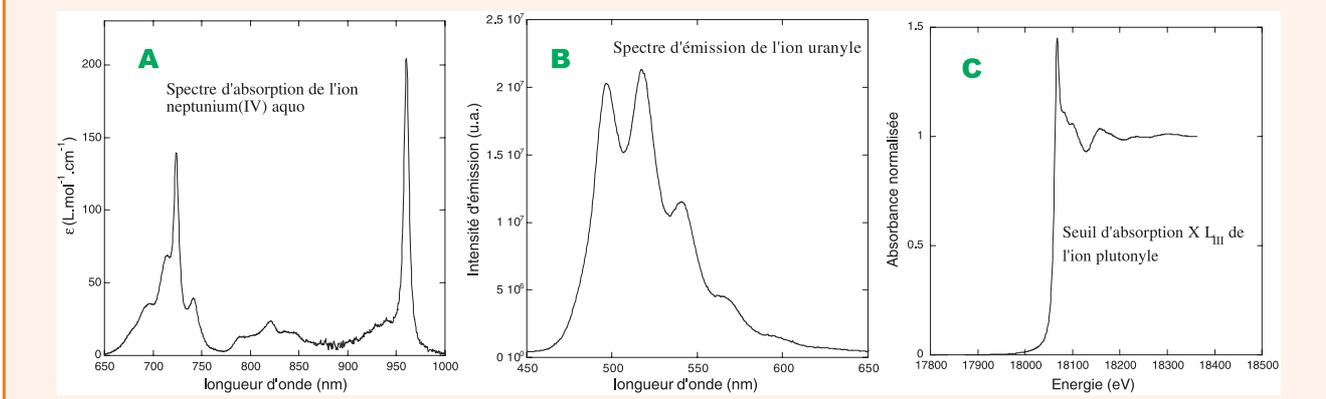
### Spectroscopie et électrons f

De nombreuses mesures spectroscopiques permettant de sonder ces électrons, plus ou moins engagés dans des liaisons, ont mis en évidence les caractéristiques électroniques décrites ci-dessus. Un exemple significatif est donné ici.

La spectroscopie optique, UV-vis-IR (de 200 à 1 000 nm), a été l'une des méthodes la plus employée pour sonder les électrons 5f des actinides en phase condensée et apporter ainsi les données indispensables à la compréhension de leur comportement. La plupart des études systématiques dans ce domaine ont été réalisées sur les ions actinides (et lanthanides isoélectroniques pour fournir des éléments de comparaison) incorporés dans des structures cristallines iono-covalentes, dans lesquelles l'environnement de l'ion est parfaitement défini. Les propriétés spectrales (spectres d'absorption et d'émission) ont pu être interprétées à l'aide du modèle phénoménologique du champ cristallin\* appliqué aux niveaux de l'ion libre. Dans ce cadre, les spectres optiques recueillis sont issus des transitions entre états électroniques résultant d'une configuration  $f^n$  dans un champ de ligands de symétrie connue. De façon simplifiée, un ensemble de quelques paramètres est nécessaire pour bien décrire toutes les interactions mises en jeu dans un tel système et calculer ainsi les énergies de chaque niveau électronique. Ces interactions sont principalement le couplage spin-orbite, la répulsion inter-électronique et le champ de ligand. L'ajustement de l'énergie, calculée pour chaque niveau, avec les « niveaux expérimentaux » issus de l'analyse des spectres optiques, permet de déterminer la valeur de ces paramètres phénoménologiques. Ce type d'investigation a été mené du protactinium au curium (trivalents et/ou tétravalents) et sur les lanthanides trivalents. Les résultats principaux sont : i) la constante de couplage spin-orbite est environ deux fois plus importante pour les actinides que pour les lanthanides – ceci est parfaitement en accord avec la différence de numéro atomique entre ces deux familles ; ii) les valeurs des paramètres rendant compte de la répulsion inter-électronique sont plus faibles pour les éléments 5f que pour les 4f. Les électrons 5f sont donc plus « éloignés » les uns des autres que ne le sont les électrons 4f. Cette comparaison met clairement en évidence que les orbitales 5f sont, au moins pour ce type de composés iono-covalents, plus diffuses que les orbitales 4f ; iii) les valeurs des paramètres, associés à l'interaction entre l'ion f et les ligands, sont plus importantes pour l'ion 5f que pour l'ion 4f. Ici encore, il est mis en évidence une extension radiale plus importante pour les éléments 5f que pour les 4f. Les électrons 5f sont plus « proches » des ligands et interagissent donc plus avec les électrons de valence des ions environnants, contrairement aux électrons 4f qui sont relativement confinés autour du noyau et ne « voient » pratiquement pas ces ligands [3-4]. Un dernier point important, conséquence de cette différence d'extension radiale, est à souligner. Dans le cas des éléments 5f, il peut se produire un fort couplage entre les orbitales 5f diffuses et les modes de vibration du milieu environnant. Ceci donne lieu à la présence de nombreuses raies vibroniques, qui

## La spectroscopie : un outil indispensable

Pour sonder les différents niveaux orbitaux des actinides, la spectroscopie est une technique indispensable. L'énergie des photons « sonde » détermine les niveaux des transitions explorées, conduisant à des informations soit de type structural (sphère de coordination, symétrie), soit d'ordre électronique (degré d'oxydation, covalence, etc.). La spectrophotométrie UV-proche IR (domaine énergétique de 1 à 15 eV) est par exemple connue pour caractériser la formation de complexes d'actinide en milieu aqueux grâce aux transitions 5f-5f et 5f-6d. La *figure A* montre en exemple le spectre d'absorption du neptunium(IV) en milieu acide chlorhydrique. De plus, certains actinides peuvent émettre de la lumière sous l'action d'un faisceau laser pulsé. Cette méthode est tout à fait sélective et relativement sensible. L'analyse de ce signal de fluorescence (énergie, déclin en fonction du temps) permet de déterminer le nombre d'espèces différentes et leur forme chimique (première sphère de coordination autour de l'ion actinide). Par exemple, l'ion transdioxo uranyle ( $\text{UO}_2^{2+}$ ), excité à 255 nm, présente un spectre de fluorescence caractéristique (*figure B*), relativement intense, de 450 à 650 nm correspondant à la désexcitation de la configuration  $\alpha_1^1 \delta_u^1$  vers la configuration fondamentale  $\alpha_1^2$  (cf. *figure 3*). À plus haute énergie, dans le domaine des rayons X dits « durs » (vers 17 000-18 000 eV), la spectroscopie d'absorption des rayons X, et en particulier le domaine en énergie de l'EXAFS\*, au seuil  $L_{III}$  des actinides, permet de décrire la sphère de coordination du cation métallique. À ces informations viennent s'ajouter celles du XANES (« X-ray absorption near edge structure ») qui permet de sonder les états de valence du cation métallique en partant d'orbitales de cœur. Ainsi le spectre d'absorption X de l'ion plutonyle dans le tributylphosphate présenté sur la *figure C* est une signature de la structure transdioxo du plutonium au degré d'oxydation VI. Un modèle structural et électronique peut être obtenu en combinant l'ensemble de ces techniques à différentes énergies. De nos jours, il est essentiel de coupler ces données expérimentales aux calculs de la chimie théorique qui permettent d'affiner les modèles.



rendent parfois difficile l'interprétation des données des spectres optiques.

### Quelques propriétés d'oxydoréduction

Nous l'avons vu, l'ensemble des propriétés électroniques des couches 5f et 6d confère aux actinides des propriétés chimiques particulièrement riches. En témoigne par exemple les variations des potentiels d'ionisation des couches de valence en fonction du numéro atomique [5]. Ainsi et très schématiquement, la série peut être divisée en deux parties, comme le montre la *figure 1*. Dans la première, de l'uranium au plutonium, les degrés d'oxydation stabilisés en solution aqueuse vont de +III à +VI (au degré d'oxydation +V, l'uranium aquo n'a jamais été observé). Le thorium, en début de série, n'est stable qu'au degré +IV. Dans la deuxième partie, de l'américium (ou plus significativement du curium) au lawrencium, c'est le degré +III qui gouverne majoritairement la chimie de ces éléments.

Afin d'illustrer cette variété, le cas du plutonium est particulièrement notable car susceptible d'exister sous cinq degrés d'oxydation en solution aqueuse. Comme l'indique la valeur très négative du potentiel standard d'oxydoréduction du couple  $\text{Pu(III)/Pu(0)}$ , le plutonium sous sa forme métallique est extrêmement « avide » d'oxygène, ce qui rend ce métal pyrophorique et complexe à transformer et manipuler. Les quatre principaux degrés d'oxydation (de +III à +VI) sont multihydratés en milieu acide non complexant, avec des polyhydrates radicalement différents pour les degrés +III et +IV d'une part (souvent prismatique), +V et +VI d'autre part (toujours bipyramidal), avec la formation d'espèces transdioxo cationiques de géométrie bipyramidale  $\text{PuO}_2^{2+}$  et

$\text{PuO}_2^{2+}$ . La forme chimique admise actuellement au degré d'oxydation +VII est  $\text{AnO}_3^+$  en milieu acide et  $\text{AnO}_4^-$  en milieu fortement basique. Les valeurs des potentiels des couples oxydoréducteurs +III à +VI sont très proches et situées vers 1,0 V/ENH. La proximité de la valeur de potentiel des trois couples oxydoréducteurs  $\text{Pu(VI)/Pu(V)}$ ,  $\text{Pu(V)/Pu(IV)}$  et  $\text{Pu(IV)/Pu(III)}$  confère à cet élément la propriété exceptionnelle d'exister en solution acide sous les quatre degrés d'oxydation simultanément, d'où résulte une très grande complexité de comportement d'oxydoréduction. De l'intervention des protons pour les couples  $\text{Pu(V)/Pu(IV)}$  et  $\text{Pu(VI)/Pu(V)}$  résulte l'instabilité et la dismutation des espèces +IV et +V suivant l'acidité du milieu. C'est d'ailleurs en partie à cause de cette contrainte de dismutation de  $\text{Pu(IV)}$  que la majorité des opérations sont réalisées en milieu acide, avec une concentration en proton supérieure à une mole par litre, lors du retraitement du combustible nucléaire. Il est également primordial de prendre en compte la cinétique de ces processus d'oxydoréduction. En effet, la rupture ou la formation des liaisons transdioxo sont cinétiquement lentes par rapport à la cinétique de transfert de charge. Ainsi et de façon très schématique, il est possible de classer les couples oxydoréducteurs en deux familles : les couples d'oxydoréduction dits rapides et ceux dits lents. Les premiers concernent les couples  $\text{Pu(IV)/Pu(III)}$  et  $\text{Pu(VI)/Pu(V)}$  pour lesquels seul un transfert de charge est réalisé. Les seconds concernent les couples  $\text{Pu(IV)/Pu(V)}$  et  $\text{Pu(IV)/Pu(III)}$  pour lesquels une réaction chimique (formation ou rupture des liaisons transdioxo) cinétiquement lente est couplée au transfert de charge. Si cette notion de cinétique reste qualitative, il est essentiel de la considérer car c'est ce contrôle cinétique des réactions qui permet le déroulement

ou non des différentes réactions d'oxydoréduction rencontrées avec le plutonium, et les actinides en général.

Dans le cas de l'uranium, les degrés d'oxydation stables ou métastables en milieu acide non complexant sont +IV ( $U^{4+}$ ), +V ( $UO_2^+$ ) et +VI ( $UO_2^{2+}$ ). Comme dans le cas du plutonium, l'instabilité du degré d'oxydation +V de l'uranium, en fonction de l'acidité, conduit à l'accumulation de U(IV) et U(VI) suite à sa dismutation. Il est important de noter que le potentiel standard d'oxydoréduction du couple U(VI)/U(IV) est nettement inférieur à celui du couple Pu(IV)/Pu(III), et par conséquent, l'uranium au degré d'oxydation +IV est capable de réduire le plutonium jusqu'au degré d'oxydation +III. C'est d'ailleurs la réaction principale permettant de séparer le plutonium de l'uranium lors de l'étape de dés-extraction réductrice dans le procédé PUREX [6].

L'analyse des données thermodynamiques indique que contrairement au plutonium et à l'uranium, le neptunium au degré d'oxydation +V est le plus stable en milieu acide. En revanche, comme dans le cas de l'uranium, le degré d'oxydation +III est métastable. Cette métastabilité est liée pour l'essentiel à l'oxydation par les traces d'oxygène, compte tenu de la faible valeur de potentiel standard d'oxydoréduction du couple Np(IV)/Np(III), et la stabilisation de Np(IV) en solution aqueuse par la présence de ligand. Le potentiel standard d'oxydoréduction du couple Np(VI)/Np(V), en milieu acide non complexant, a été évalué à près de 2,04 V/ENH, c'est-à-dire environ 200 mV plus faible que celui du plutonium, d'où une stabilité accrue.

Enfin, le cas de l'américium est particulier dans la mesure où le potentiel standard d'oxydoréduction du couple Am(IV)/Am(III) est très élevé (de l'ordre de 2,34 V/ENH), ce qui le rend très instable au degré d'oxydation +IV. Cette instabilité conduit à la formation de Am(III) et Am(V) par dismutation. L'américium au degré d'oxydation +V étant également instable, il se dismute pour former Am(VI) et Am(IV). Dans le cas particulier de l'américium, et aussi de  $^{238}\text{Pu}$ , il faut préciser que l'auto absorption des radiations alpha, suite à la décroissance radioactive, conduit à l'instabilité des hauts degrés d'oxydation (+VI et +V).

## Une chimie de coordination étonnamment riche

L'une des propriétés les plus remarquables des actinides du début de série est probablement leur propension à former des oxocations de forme linéaire (on parle alors de cations transdioxo). Seuls l'osmium de la série des métaux « 5d » et le ruthénium de la série des métaux « 4d » (lorsqu'il est stabilisé par certains ligands comme des porphyrines) présentent également cette propriété. On parlera alors d'ions actinyles, le suffixe *yle* signifiant la présence d'une forme  $AnO_2^{n+}$  (An : actinide). Pour comparaison, le vanadium au degré d'oxydation +IV forme un cation monooxo  $VO^{2+}$ , et au degré d'oxydation +V, un cation dioxo mais coudé,  $VO_2^+$ . Seuls les éléments uranium à américium peuvent former des cations actinyles ; l'élément protactinium semble ne pouvoir former qu'une espèce monooxo dans certaines conditions, cette propriété étant toujours sujet à débat [7]. Les deux espèces les plus connues de cette série *actinyle* sont l'uranyle  $UO_2^{2+}$  avec l'uranium au degré d'oxydation +VI et le neptunyle  $NpO_2^+$  avec le neptunium au degré d'oxydation +V. Ce sont également les formes les plus stables en milieu aqueux de ces deux éléments. La covalence de cette liaison actinyle est à l'origine d'une forte anisotropie axiale et il en résulte une chimie de coordination dite du plan équatorial

dans lequel des ligands vont pouvoir venir compléter la sphère de coordination de l'oxocation. On parlera de polyèdres de coordination\* de type bipyramidal avec des coordinences du type 5+2 ou 6+2 (2 représentant les deux oxygènes *yles*).

Aux degrés d'oxydation +III et +IV (+IV étant le degré le plus stable en milieu aqueux de l'ion plutonium, comme le montre la *figure 1*), on rencontre des polyèdres de coordination plus isotropes en première approximation, avec des coordinences bien souvent supérieures à 8.

Dans les trois paragraphes suivants, nous allons tenter de dresser un panorama très large des principales géométries rencontrées en chimie de coordination des actinides. Cette description n'est en rien exhaustive et les exemples choisis ont pour but d'illustrer les différents polyèdres qui peuvent être rencontrés. Pour une lecture plus complète sur la chimie de coordination des actinides, citons par exemple la revue de Bagnall [8], ainsi que la série nouvellement rééditée de *Chemistry of the Actinide Elements* [9] pour un état des lieux exhaustif de la physico-chimie des actinides.

## Une très forte tendance à l'hydrolyse

Parmi les complexes des actinides qu'il est nécessaire de considérer lors des opérations de retraitement des combustibles nucléaires, les complexes hydroxo (formés lors des réactions d'hydrolyse) ont une place particulière. Ils peuvent en effet donner lieu à la formation d'un réseau macromoléculaire colloïdal, quasiment inerte à toute réaction chimique, qui est de plus susceptible de sédimenter. Compte tenu de ces contraintes, la totalité des opérations chimiques mettant en œuvre du plutonium sont réalisées à l'aide de solutions dont l'acidité est suffisamment importante pour éviter l'hydrolyse de l'élément.

Il est admis que la tendance à l'hydrolyse suit la variation du potentiel ionique, c'est-à-dire que l'intensité de l'interaction augmente, d'une part avec la charge localisée sur le centre métallique (+4 ( $An^{4+}$ ), +3,3 ( $AnO_2^{2+}$ ), +3 ( $An^{3+}$ ) et +2,3 ( $AnO_2^+$ )) [10] pour un élément donné d'autre part avec le numéro atomique pour les ions au degré d'oxydation +III ou +IV. Il est important de noter également que le mécanisme d'hydrolyse fait intervenir dans une première étape le transfert d'un proton appartenant à une molécule d'eau coordonnée en première sphère vers une molécule d'eau située en seconde sphère de coordination. Dans une seconde étape, ce proton sera expulsé de la seconde sphère de coordination vers le milieu réactionnel. Enfin, il a été observé que l'hydrolyse des cations les moins hydrolysables ( $An^{3+}$  et  $AnO_2^+$ ) conduit à la formation d'espèces monomères, alors que l'hydrolyse des cations les plus acides ( $An^{4+}$  et  $AnO_2^{2+}$ ) donne lieu à des phénomènes polymères.

## Structure, propriétés et chimie de coordination des ions actinyles aux degrés d'oxydation +V et +VI

Il faut relier cette propension à former des ions transdioxo aux propriétés électroniques des électrons 5f. En effet, la liaison *yle* est extrêmement covalente (elle est d'ailleurs généralement très courte, entre 1,7 et 1,9 Å). Elle se compose de quatre orbitales moléculaires liantes occupées ( $\pi_g, \pi_u, \sigma_g, \sigma_u$ ), formant ainsi une liaison mettant en jeu les orbitales 2p de l'oxygène et 5f de l'actinide pour les deux liaisons  $\sigma$ , les orbitales 2p de l'oxygène et 6d de l'actinide

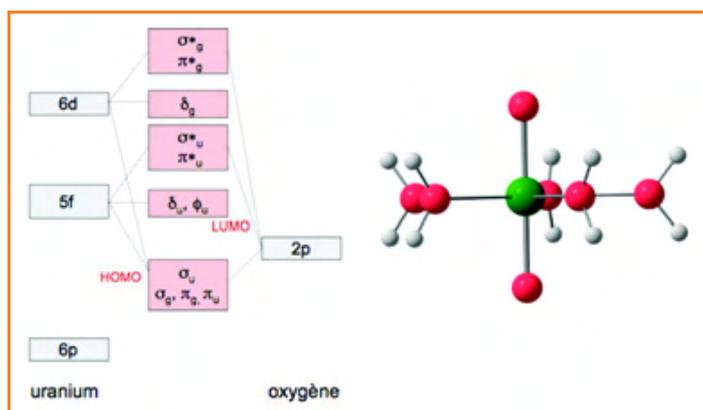


Figure 2 : À droite : schéma du diagramme d'orbitales moléculaires de l'uranyle (pas de mise en échelle en énergie) ; À gauche : géométrie d'un ion actinyle, ici l'ion uranyle aquo (d'après un calcul de chimie quantique, D. Guillaumont, communication privée).

pour les deux liaisons  $\pi$ , et deux orbitales non liantes  $\delta_u$  et  $\phi_u$  composées des orbitales 5f de l'actinide [11] (figure 2). Cette participation des orbitales 5f à une liaison chimique est remarquable si on considère l'absence d'un tel phénomène pour les homologues lanthanides (cf. le § « Une position intermédiaire... »). La stabilité de cette liaison actinyle décroît lorsque le numéro atomique augmente de l'uranium à l'américium, car d'une part le nombre d'électrons de l'actinide augmente, ce qui a pour effet de remplir les orbitales antiliantes et ainsi de déstabiliser la liaison, et d'autre part, les orbitales 5f sont stabilisées par l'effet électro-attracteur du noyau, ce qui a tendance à diminuer leur recouvrement avec les orbitales 2p de l'oxygène.

Les composés les plus étudiés sont sans nul doute les complexes de l'uranyle, étant donnée la grande stabilité de cette forme de l'uranium et la faible activité radiologique de l'uranium naturel. En chimie organométallique également, les composés de l'uranium ont fait l'objet de très nombreuses études que nous ne détaillerons pas ici [12]. Il est généralement admis qu'en milieu acide non complexant, l'ion uranyle aquo est formé de deux liaisons  $y/e$  autour de 1,76-1,78 Å et de cinq (entre cinq et six selon les auteurs) molécules d'eau dans le plan équatorial vers 2,42-2,45 Å. Ces données structurales ont été dérivées de mesures de diffusion des rayons X, de spectroscopie Raman\* (en diffusion Raman, la bande de vibration symétrique de la liaison  $y/e$  se situe autour de 800  $\text{cm}^{-1}$  et cette valeur dépend des ligands équatoriaux), de mesures EXAFS\* ou encore de calculs de chimie quantique [13]. Pour comparaison, l'ion neptunyle aquo possède une liaison  $y/e$  d'environ 1,80-1,85 Å ; cette élongation de la liaison axiale est bien en accord avec le passage d'un degré d'oxydation +VI pour l'uranium à +V pour le neptunium. Les molécules d'eau (cinq-six) se situent vers 2,42-2,45 Å dans le plan équatorial. Comparons avec le plutonium au degré d'oxydation +V : 1,81 et 2,47 Å (il semble qu'il y ait diminution du nombre de molécules d'eau dans le plan équatorial de cinq à quatre) ; et au degré d'oxydation +VI : 1,74 et 2,40 Å [14]. Ces valeurs ont été obtenues par mesures EXAFS et montrent bien, dans leur gamme d'incertitude (généralement 0,02 Å), la similarité des sphères de coordination des espèces aquo de l'uranium au plutonium pour les degrés d'oxydation +V et +VI.

En milieu complexant, ce sont très probablement les carbonates d'uranyle qui ont fait l'objet des plus nombreuses études étant donnée leur importance en géochimie. Les

adduits mono-  $\text{UO}_2(\text{CO}_3)$ , bi-  $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2^{2-}$  ou tricarbonato  $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$  sont connus, la dernière espèce présentant une saturation par les carbonates bidentes du plan équatorial de l'ion uranyle : on est en présence d'une coordination 6+2, ou encore bipyramide hexagonale (une coordination très fréquente pour l'uranyle). Cette coordination 6+2 est également la géométrie du nitrate d'uranyle, composé commercial bien connu comme point d'entrée de la chimie aqueuse de l'U(VI) :  $[\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  [15]. Dans le cas des carbonates solides (présence de carbonates bidentes ou monodentes pontants), les espèces forment bien souvent une structure en feuillets dans laquelle les ions uranyles sont perpendiculaires aux plans des feuillets. C'est le cas de la rutherfordine ( $\text{UO}_2\text{CO}_3$ ), l'une des formes les plus connues de carbonates d'uranyle [16] (figure 3). Les équivalents neptunyle et plutonyle sont également connus.

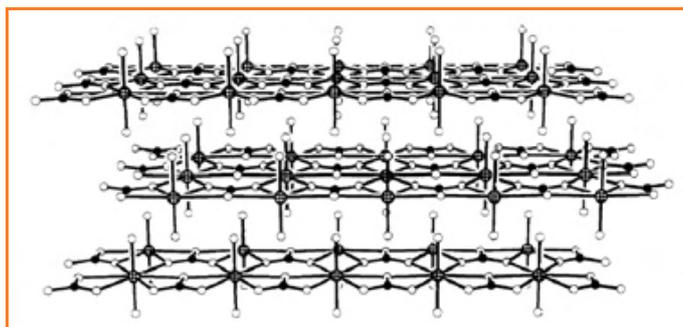


Figure 3 - Schéma de la structure de la rutherfordine, d'après [16].

Cette organisation architecturale en trois dimensions est également une caractéristique des « nanoclusters » de peroxyde (ou espèces mixtes peroxyde-hydroxyde) d'uranyle ou de neptunyle. L'assemblage des unités bipyramidales engendre ainsi des objets nanométriques qui peuvent atteindre plusieurs dizaines d'unités et former des sphères ou des tubules [17].

Mentionnons pour finir l'importance de quelques ligands pour leur rôle dans l'industrie électronucléaire actuelle : les nitrates et surtout les organophosphates. Les complexes mixtes nitrate/tributylphosphate ( $\text{OP}(\text{OC}_4\text{H}_9)_3$ , ou TBP) jouent en effet un rôle clé dans le procédé de retraitement des combustibles nucléaires tel que mis en œuvre à l'usine de la Hague : le procédé PUREX. Dans ce procédé, après dissolution du combustible dans l'acide nitrique, le complexe  $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2(\text{TBP})_2$  est formé et extrait de façon concomitante avec l'analogue de Pu(IV), ce qui permet l'extraction sélective de l'uranium et du plutonium du reste du combustible (voir par exemple [18] pour un panorama des procédés du cycle de l'électronucléaire).

### La chimie de coordination des degrés d'oxydation +III et +IV

La chimie de coordination des degrés d'oxydation +III et +IV fait apparaître des polyèdres de coordination généralement plus isotropes, pouvant bien souvent s'apparenter à des prismes capés, antiprismes ou encore dodécaèdres trigonaux. Les nombres de coordination sont généralement supérieurs à 7 et peuvent aller jusqu'à 12 pour les cations les plus gros comme le Th(IV). Bien que la structure de ces espèces soit relativement moins bien connue que celles des actinyles (l'uranium et le neptunium au degré d'oxydation +IV, les deux éléments les plus étudiés, sont moins stables en

milieu aqueux que sous leur forme  $y/e$ , l'U(III) est extrêmement instable), c'est essentiellement les éléments du début de la série qui ont fait l'objet d'études structurales. Le thorium est sans conteste le plus étudié de cette famille étant donnée sa stabilité au degré d'oxydation +IV d'une part et sa faible activité radiologique d'autre part.

Les ions aquo ont été largement étudiés, aux degrés d'oxydation +III et +IV, puis comparés à la série des lanthanides. S'il est difficile de connaître avec précision la structure de l'ion aquo (mesures de diffusion de neutrons, de rayons X et surtout d'EXAFS), il est souvent possible de cristalliser la forme aquo de l'ion à l'aide de gros contre-ions comme les triflates ( $CF_3SO_3^-$ ) ou l'étylsulfate. C'est ce qui a été réalisé pour la série des ions lanthanide(III) [19]. Dans ce cas, la sphère de coordination du cation peut s'apparenter à un prisme trigonal tricapé (coordination de 9) dans laquelle les six distances prismatiques sont environ 0,1 Å plus courtes que les distances de ligands capés. De façon remarquable, trois équivalents actinide(III) ont également été synthétisés : Pu(III) [20], Am(III) et Cm(III) [21]. La figure 4 montre la structure obtenue par diffraction des rayons X pour le Pu(III). Dans les trois cas, de façon analogue aux lanthanides, la sphère de coordination s'apparente à un prisme trigonal tricapé. Au degré d'oxydation +IV, seules des mesures en solution sont disponibles [12].

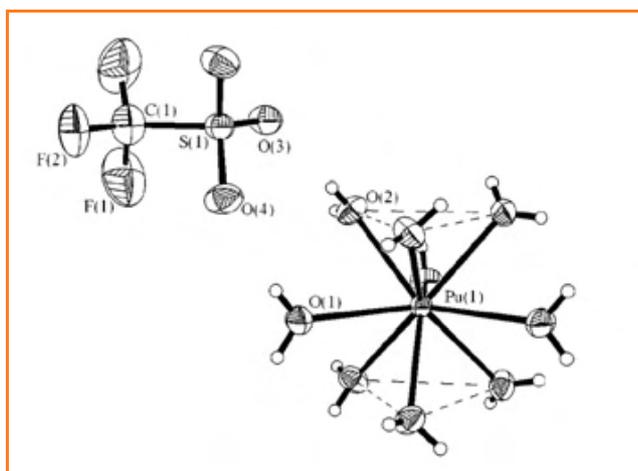


Figure 4 - Structure du complexe  $[Pu(H_2O)_9][CF_3SO_3]_3$  (ellipsoïdes 40 %), d'après [20].

En milieux complexant comme les carbonates, la comparaison avec les hauts degrés d'oxydation est intéressante. Ainsi par exemple, les formes saturées en ligands carbonates bidentes de Pu(IV) et Th(IV) sont comparables. La coordination est de 10 et la sphère de coordination peut s'apparenter à un dodécaèdre trigonal déformé [22-23] ou, par analogie avec les complexes actinyles décrits ci-avant, à une bipyramide à base hexagonale (deux des carbonates jouant le rôle des ligands axiaux). Remarquablement, il existe une forme limite de coordination 12 pour le thorium, le plus gros des cations actinides. C'est la tulokite  $Na_6BaTh(CO_3)_6 \cdot 6H_2O$ , découverte dans les années 1990 dans le massif de Khibinski. Le polyèdre de coordination est un icosaèdre [24].

Pour finir cette illustration des différentes formes polyédriques propres aux actinides, prenons l'exemple des méthylmalonates ( $HOOC-MeCH-COOH$ ) de Th(IV) et U(IV). Il y a quatre ligands méthylmalonate bidentes par cation actinide, d'où résulte une coordination de 8 avec une géométrie d'antiprisme cubique [25]. Les complexes de

malonate existent également mais une molécule d'eau vient compléter l'antiprisme par « capping » de l'une des faces. La coordination est alors de 9.

### Une curiosité : les degrés d'oxydation +VII

Les formes de neptunium et de plutonium au degré d'oxydation +VII ont pu être identifiées en solution basique et dans le solide. Il s'agit dans tous les cas de formes pouvant être formellement décrites comme tétraoxo, formant des bipyramides tétraogonales. En solution basique, la structure de Np(VII) a été déterminée par mesures EXAFS [26]. Dans le solide, plusieurs structures obtenues par diffraction des rayons X ont été publiées et montrent (à un degré de distorsion variable avec la forme centrosymétrique bipyramidale) la présence de groupements  $[An(OH)_2(O)_4]^{3-}$ . Les quatre distances An-O sont typiquement comprises entre 1,85 et 1,90 Å et An-OH entre 2,30 et 2,40 Å [27]. À ce jour, seules ces quelques structures sont disponibles pour les actinides au degré d'oxydation +VII. Pour comparaison, le manganèse au degré d'oxydation +VII (le plus élevé pour les métaux de transition) forme l'espèce oxoanionique permanganate  $MnO_4^-$  bien connue (tout comme le pertechnétate et le perrhénate), de structure tétraédrique.

### Conclusion

Nous avons souhaité montrer à quel point la chimie moléculaire des éléments actinides est un domaine scientifiquement riche et encore largement inexploré. Cet article se veut avant tout un outil pédagogique au service des jeunes chercheurs désirant s'investir dans ce domaine spécifique de la chimie de coordination. Il s'agissait également de présenter cet état de l'art comme un enjeu de la physico-chimie moderne, car décrire le comportement électronique de ces éléments dit lourds est à la base non seulement d'une meilleure compréhension des systèmes électroniques relativistes, mais également, en R & D, des procédés physico-chimiques associés aux futurs développements énergétiques.

Il apparaît ainsi que la famille des actinides possède des propriétés physico-chimiques lui conférant une diversité de formes chimiques particulièrement riche. En marge de cette présentation, précisons que la chimie du solide (métaux purs, alliages, composés céramique, verres, etc.) forment également des composés aux propriétés spécifiques (voir par exemple les nombreuses études sur le comportement des phases du plutonium métal). Cette diversité est la conséquence directe des propriétés des orbitales 5f et 6d, proportionnellement plus délocalisées que leurs homologues 4f.

La chimie des actinides, nous l'avons vu, est une science jeune d'un siècle et dont les perspectives de développement sont associées à la question énergétique des décennies à venir. Il convient donc d'accroître nos connaissances à caractère fondamental. Un défi qui doit mobiliser l'ensemble de la communauté des radiochimistes.

### Références

- [1] Fernandez B., *De l'atome au noyau. Une Approche historique de la physique atomique et de la physique nucléaire*, Ed. Ellipses, Paris, 2006.
- [2] Poirier J.-P., *Marie Curie et les conquérants de l'atome, 1896-2006*, Ed. Pygmalion, Paris, 2006.
- [3] Carnall W.T., Crosswhite H., Crosswhite H.M., Energy level structure and transition probabilities of the trivalent lanthanides in  $LaF_3$ , *Argonne National Laboratory Report*, ANL-89-39, 1977.
- [4] Carnall W.T., Crosswhite H.M., Optical spectra of actinide ions in compound and in solution, *Argonne National Laboratory Report*, ANL-84-90, 1985.

- [5] Seaborg G.T., *Radiochim. Acta*, **1993**, 61, p. 115.  
 [6] Schulz W.W., Burger L.L., Navratil J.D., *Science and Technology of Tributylphosphate*, Vol. III, CRC Press, Boca Raton (FL), **1990**.  
 [7] Le Naour C., Trubert D., Di Giandomenico M., Fillaux C., Den Auwer C., Moisy P., Hennig C., *Inorg. Chem.*, **2005**, 44, p. 9542.  
 [8] Bagnall K.W., *The Actinides, Comprehensive Coordination Chemistry*, G. Wilkinson (ed), vol. 7, **1987**, Pergamon Press, Oxford.  
 [9] *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements*, L.R. Moss, N.M. Edelstein, J. Fuger (eds), Springer, Dordrecht, Pays-Bas, **2006**.  
 [10] Runde W., Plutonium, a historical review, S.H. Hecker (ed), *Los Alamos Science*, **2000**, 26, p. 392.  
 [11] a) Denning R., *J. Phys. Chem. A*, **2007**, 111, p. 34125 ; b) Kaltsoyannis N., *Chem. Soc. Rev.*, **2003**, 32, p. 9.  
 [12] Ephritikhine M., *Dalton Trans.*, **2006**, p. 2501.  
 [13] a) Antonio M.R., Soderholm L., Williams C.W., Blaudeau J.-P., Bursten B.E., *Radiochim. Acta*, **2001**, 89, p. 17 ; b) Den Auwer C., Simoni E., Conradson S.D., Madic C., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2003**, p. 3843.  
 [14] Conradson S.D., *Appl. Spectroscopy*, **1998**, 52, p. 252A.  
 [15] Taylor J.C., Mueller M.H., *Acta Cryst.*, **1965**, 19, p. 536.  
 [16] D'après la revue sur les carbonates d'actinide par Clark D.L., Hobart D.E., Neu M.P., *Chem. Rev.*, **1995**, 95, p. 25.  
 [17] Burns P.C., Kubatko K.A., Sigmon G., Fryer B.J., Gagnon J.E., Antonio M.R., Soderholm L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44, p. 2135.  
 [18] Choppin G.R., Liljenzin J.-O., Rydberg J., *Radiochemistry and Nuclear Chemistry*, Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford, **1995**.  
 [19] Hay B.P., *Inorg. Chem.*, **1991**, 30, p. 2876.  
 [20] Matonic J.H., Scott B.L., Neu M.P., *Inorg. Chem.*, **2001**, 40, p. 2638.  
 [21] a) Lindqvist-Reis P., Apostolidis C., Rebizant J., Morgenstern A., Klenze R., Walter O., Fanghänel T., Haire R.G., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, p. 919 ; b) Skanthakumar S., Antonio M.R., Wilson R.E., Soderholm L., *Inorg. Chem.*, **2007**, 46, p. 3485.  
 [22] Clark D.L., Conradson S.D., Keogh D.W., Palmer P.D., Scott B.L., Tait C.D., *Inorg. Chem.*, **1998**, 37, p. 2893.  
 [23] Clark D.L., Hobart D.E., Neu M.P., *Chem. Rev.*, **1995**, 95, p. 25.  
 [24] Jamnova N.A., Pushcharovskii D.I., Voloshin A.V., *Doklady Akademii Nauk SSSR*, **1990**, 310, p. 99.  
 [25] Zhang Y.J., *Polyhedron*, **2000**, 19, p. 1757.  
 [26] Williams C.W., Blaudeau J.-P., Sullivan J.-C., Antonio M.R., Bursten B., Soderholm L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, p. 4346.  
 [27] Grigoriev M.S., Krot N.N., *Acta Cryst.*, **2007**, E63, il76.



C. Den Auwer



P. Moisy



E. Simoni

**Christophe Den Auwer** (auteur correspondant) est chercheur et **Philippe Moisy**, directeur de recherche, au CEA Marcoule\*.

**Éric Simoni** est professeur à l'Institut de Physique Nucléaire d'Orsay\*\*.

\* CEA Marcoule, DEN/DRCP/SCPS, 30207 Bagnols-sur-Cèze.  
Courriel : christophe.denauger@cea.fr

\*\* Institut de Physique Nucléaire d'Orsay, Université Paris-Sud 11, 91405 Orsay.

## Formulation des solides divisés Des procédés aux propriétés d'usage

Coordonné par Léa Metlas-Komunjer

La matière solide divisée, très présente dans la nature et dans plusieurs domaines de la vie de tous les jours, connaît des particularités dans son comportement : elle est similaire au liquide dans son écoulement, et sera solide après un stockage prolongé ou inadapté.



De part cette forte présence, la chimie de la matière divisée connaît un développement sans précédent. La matière divisée trouve ses applications en industrie pharmaceutique, cosmétique, alimentaire, par la production d'aérosols, de poudres prêtes à l'emploi (médicaments, comprimés), d'aliments cryogénés, de matériaux céramiques, d'émulsions cosmétiques, d'huiles de forages (industrie).

Cet ouvrage fait le point sur les connaissances actuelles et a pour objectif de favoriser les échanges entre chercheurs, équipementiers et industriels.

Volume n°14, collection 'Cahiers de Formulation'  
Avril 2009, 978-2-7598-0367-5, 170 pages, 34 €



www.edpsciences.org

**BON DE COMMANDE  
à renvoyer à :**  
EDP Sciences - BP 112  
91944 Les Ulis Cedex A

	Titre					Prix unitaire	Quantité	Total
Formulation des solides divisés						34 €	x _____	= _____ €
Frais de port*	1 livre	2 livres	3 livres	4 livres	5 livres ou plus			
France métropolitaine	+4 €	+5 €	+6 €	+7 €		Gratuit		+ _____ €
DOM et Europe	+7 €	+9 €	+11 €	+13 €				
TOM et reste du monde	+9 €	+12 €	+15 €	+18 €				
						<b>TOTAL GÉNÉRAL</b>	= _____ €	

\* Aucune commande ne pourra être expédiée sans ajout des frais de port.

AC\_Mai09

Nom / Prénom : \_\_\_\_\_  
 Adresse : \_\_\_\_\_  
 Tét : \_\_\_\_\_  
 Code Postal : \_\_\_\_\_ Ville : \_\_\_\_\_ Pays : \_\_\_\_\_

Paiement au choix :  par chèque à l'ordre d'EDP Sciences (à joindre à la commande)  
 par carte bancaire :  Visa  Eurocard  American Express  
 N° de carte : \_\_\_\_\_  
 Date d'expiration : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ CCV (3 derniers chiffres au dos de la carte) : \_\_\_\_\_

Date : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Signature : \_\_\_\_\_

# Synthèse parallèle basée sur la réaction multicomposants de Biginelli

## Une approche de la chimie verte

Xavier Bataille et Erwan Beauvineau

On connaît l'intérêt que portent la recherche et l'industrie à la synthèse parallèle, aux réactions multicomposants ainsi que, dans une moindre mesure, à l'activation micro-ondes. Ces trois aspects sont rassemblés dans le TP décrit ici, qui est destiné à des étudiants de bac + 2/bac + 3.

**Mots-clés** Synthèse parallèle, chimie combinatoire, criblage, réaction multicomposants, microchimie, activation micro-ondes, chimie verte, RMN 2D, modélisation moléculaire, mécanisme réactionnel, travaux pratiques.

**Keywords** Parallel synthesis, combinatorial chemistry, screening, multicomponent reaction, microchemistry, microwave activation, green chemistry, 2D NMR, molecular modelling, reaction mechanism.

Nous nous proposons dans cet article de réaliser une synthèse organique traitant des réactions multicomposants (RMC) sous l'aspect synthèse parallèle, et ce de trois manières différentes : l'une utilisant la verrerie et les techniques dites « classiques », une autre utilisant du matériel de microchimie, et enfin la dernière utilisant une activation micro-ondes. Une analyse des produits par RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY) sera complétée par une simulation. Nous avons testé et mis au point ce TP avec des étudiants de 2<sup>e</sup> année de BTS-Chimiste [1] et de post-BTS de synthèse organique [2] de l'ENCPB.

### Mise en situation : réactions multicomposants et synthèse parallèle

La réaction chimique idéale a un rendement de 100 %. Elle s'effectue en une opération, simple à réaliser, partant de réactifs peu coûteux, disponibles, peu toxiques et le tout se faisant dans le respect de l'environnement. Mais revenons à la réalité : cette réaction n'existe pas, si on excepte la chimie enzymatique, bien que rarement peu coûteuse ! C'est dans ce contexte que se sont développées ces dernières années les réactions domino, cascade et tandem [3-4], ainsi que les réactions multicomposants (RMC). En effet, ces dernières, qui mettent en jeu au moins trois réactifs [5], permettent de synthétiser en une étape (en « one pot ») des molécules souvent complexes à partir de petites structures. Les molécules obtenues sont souvent des alcaloïdes dont certains présentent des activités biologiques tout à fait remarquables. Les RMC sont assez nombreuses et diversifiées ; nous ne pouvons les lister toutes et les plus classiques sont proposées dans le *tableau I*. Celle qui retiendra notre attention ici est la réaction découverte par Pietro Biginelli [6] à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle (voir *annexe 1\**).

Il y a 170 ans, les deux célèbres « chimistes maudits », Auguste Laurent et Charles Gerhardt [7], réalisèrent la première synthèse à trois composants : benzaldéhyde/

ammoniac/acide cyanhydrique (voir *tableau I*). Douze ans après, Adolph Strecker (1822-1871), élève de Liebig, publie la synthèse de l'alanine [8-9]. C'est à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle que vont être découvertes plusieurs autres RMC, notamment celles d'Arthur Hantzsch (1857-1935) [11], de Karl Mannich (1877-1947) [12] et de Pietro Biginelli. Un point commun à ces réactions : elles impliquent un composé carbonylé, une amine plus ou moins fonctionnalisée et un composé présentant un méthylène actif. Mario Passerini (1891-1962), travaillant comme Biginelli à l'Université de Florence, fut en 1921 l'un des premiers à utiliser un isonitrile [12], composé découvert par Armand Gautier (1837-1920) [13]. Ont été mises au point aussi des RMC à quatre composants, telles les réactions de Bronislaw Radziszewski (1838-1914) [14] et de Bucherer-Bergs [15], permettant de synthétiser respectivement des imidazoles et des hydantoïnes [16]. Puis en 1959, c'est la réaction de Ivar Ugi [17] qui clôt plus ou moins le dernier grand type de RMC par l'utilisation à nouveau des isonitriles [18].

Après être tombées en désuétude au profit d'une chimie plus classique appliquée à la synthèse organique, les RMC vont ressurgir dans l'univers très high-tech de la synthèse parallèle et de la chimie combinatoire. En effet, le développement de la technologie a vu émerger des robots de synthèse, capables à l'aide d'une simple programmation, de préparer, purifier et analyser un grand nombre d'échantillons, rapidement et en limitant les interventions humaines (*figure 1*, page 44).

On connaît la place de plus en plus importante prise par la synthèse parallèle dans la recherche depuis une quinzaine d'années [19]. En deux mots, cette chimie permet de synthétiser en parallèle des familles de molécules aux structures proches, appelées chimiothèques, et de façon plus ou moins aléatoire selon les techniques employées [20]. Ces molécules sont ensuite testées selon des critères variant par leurs applications potentielles (inhibiteur d'enzyme, matériaux aux propriétés données, etc.) [21].

Le recours à la synthèse parallèle implique donc l'utilisation de réactions du même type. Elle vise à fabriquer des structures moléculaires nouvelles, souvent inédites. Dans le cas des applications médicales, ces molécules sont testées *in vitro*, puis éventuellement *in vivo* en cas de succès.

Le principe de la synthèse parallèle (et de la chimie combinatoire) étant de « forcer le destin » en laissant broder le hasard autour d'une structure active déjà connue ou présentant des potentialités (par exemple issue de la modélisation moléculaire, de la chimie *in silico*, du « rational

Tableau I - Exemples de réactions multicomposants (RMC).

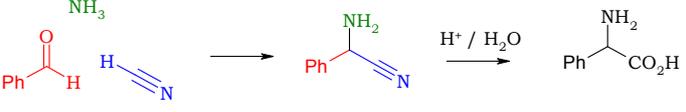
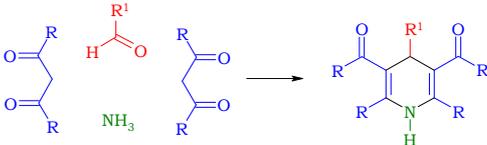
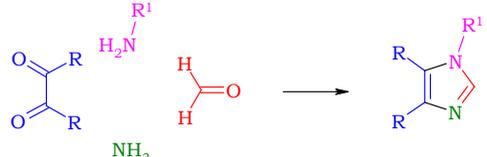
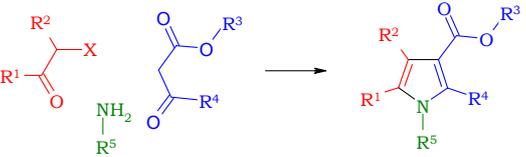
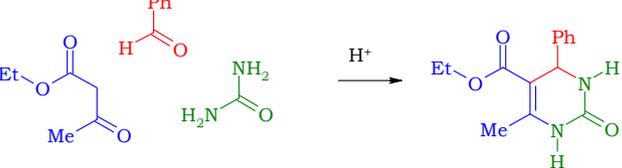
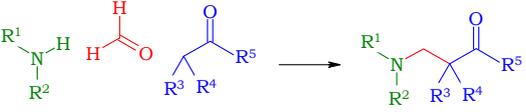
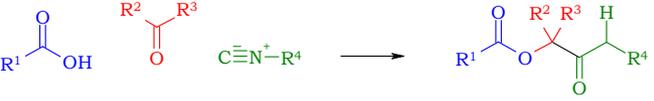
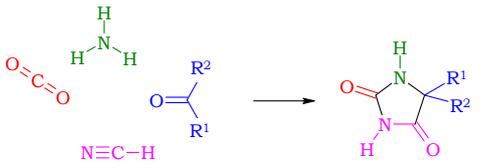
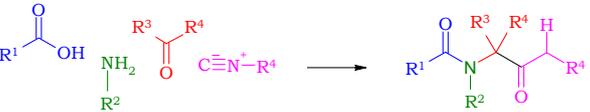
1838	Laurent-Gerhardt	Acides aminés	
1850	Strecker	Acides aminés	
1882	Hantzsch	Dihydropyridines	
1882	Radziszewski	Imidazoles	
1890	Hantzsch	Pyrroles	
1891	Biginelli	Dihydropyrimidinones	
1912	Mannich		
1921	Passerini		
1934	Bucherer-Bergs	Hydantoïnes	
1959	Ugi		

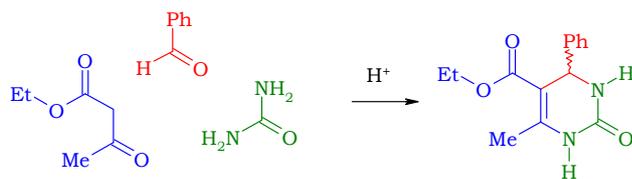


Figure 1 - Automate de synthèse parallèle (ENSCP-CNRS UMR 8151).

drug design », du « docking », de la conception *de novo*, etc.). Lors des synthèses sur automate, il est important de limiter le nombre d'étapes et de s'assurer d'une certaine efficacité. C'est pourquoi les réactions utilisées doivent être sélectives et à haut rendement.

## La réaction de Biginelli

Revenons à la réaction de Biginelli. C'est une réaction « one pot » : dans le même ballon, on place au départ tous les réactifs et ceux-ci vont réagir ensemble pour former une dihydropyrimidinone (DHPM) :



Réaction de Biginelli.

Ce type de réaction évite de passer par plusieurs étapes pour obtenir un produit, ce qui minimise le temps de manipulation et les risques de perte de produits lors des étapes intermédiaires [22]. L'attention portée à cette réaction repose sur le fait qu'elle permet la synthèse de molécules d'intérêt biologique [23]. Cette synthèse fait intervenir trois molécules : à l'origine l'urée, le benzaldéhyde et un  $\beta$ -cétoester, le 3-oxobutanoate d'éthyle (ou acétoacétate d'éthyle). Elle est souvent désignée par le sigle **B-3CR**, pour « **B**iginelli, **3** Components **R**eaction » (de même que la réaction de Ugi est une U-4CR).

Grâce à cette réaction, et en changeant seulement certaines chaînes latérales des réactifs de départ, on peut

obtenir plusieurs DHPM. Cette réaction peut être généralisée selon le schéma suivant :

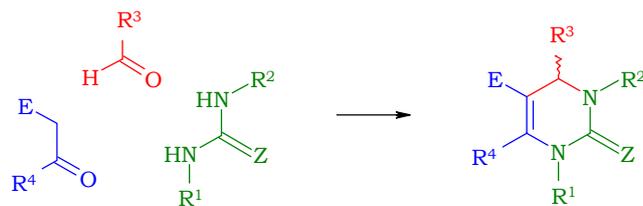


Schéma généralisé de la réaction de Biginelli.

où E représente un groupement attracteur par effet mésomère, Z un atome d'azote, de soufre ou d'oxygène, et R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> et R<sup>4</sup> des groupements hydrocarbonés alkyles ou aryles. Cette réaction constitue aujourd'hui une voie d'accès intéressante aux dihydropyrimidines. Elle constitue des étapes clés de synthèses telles celles du monastrol [24] ou de la batzellanide A ou B [25] (figure 2).

Notons que la réaction de Biginelli a été décrite sous activation micro-ondes [26], sonochimique [27], sans solvant [28] ou encore en phase aqueuse [29]. Des synthèses énantiosélectives ont été proposées, mais elles ne seront pas abordées ici [30].

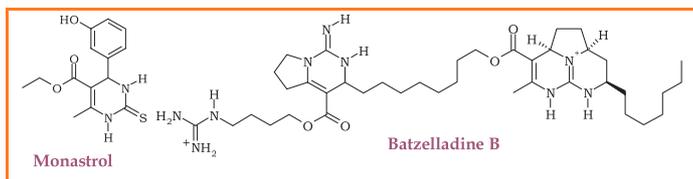
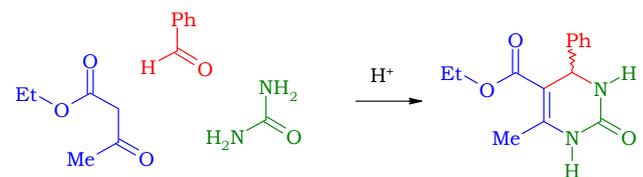


Figure 2 - Structures du monastrol et de la batzellanide B.

## Mise en place des séances de TP

Nous sommes partis initialement du protocole proposé par M.S. Holden et D. Crouch dans le *Journal of Chemical Education* [31]. La réaction de Biginelli décrite souvent en milieu acide peut aussi être catalysée par des acides de Lewis [32]. Un certain nombre de catalyseurs peuvent *a priori* convenir tels ZnCl<sub>2</sub>, AlCl<sub>3</sub>, etc. La première partie du TP consiste à tester le protocole de trois manières différentes : un tiers des étudiants (soit cinq étudiants) réalise la synthèse classique, un tiers le fait par activation micro-ondes [33] et le troisième tiers en microchimie [34]. Les élèves constatent alors qu'en microchimie ou par activation micro-ondes, le protocole donne de très bons résultats. La deuxième partie du TP consiste à « cribler » les acides de Lewis disponibles. Ne cherchant pas à envisager de production industrielle, nous avons choisi d'effectuer les réactions dans des réacteurs utilisés en microchimie (ballons de 5 mL). De façon à souligner le caractère rapide du criblage, nous avons choisi d'utiliser, dans la mesure du possible, une activation micro-ondes.

## Découverte de la réaction et modes opératoires



**Nous attirons l'attention sur le fait que certains produits, toxiques, doivent être manipulés dans le cadre strict des consignes de risque et de sécurité. Le four**

**micro-ondes utilisé est un four domestique** (voir la description du matériel en note [35]).

### Synthèse classique par activation thermique

Placer dans un ballon de 100 mL : 750 mg (12,5 mmol) d'urée, 1,3 mL (13 mmol) de benzaldéhyde, 2,4 mL (19 mmol) d'acétoacétate d'éthyle, 5,0 mL d'éthanol et ajouter dix gouttes d'acide chlorhydrique concentré (37 % *m/m*). Homogénéiser puis mettre à reflux pendant 1 h 30. Pendant le chauffage, l'urée se dissout et la solution prend une coloration jaune/verte. Après 30 minutes, la solution change de couleur et devient jaune pâle. Refroidir la suspension avec un bain de glace à environ 0 °C. Il se forme un précipité blanc jaunâtre. Filtrer sur Buchner et laver le solide avec de l'éthanol froid. Peser la masse du produit brut obtenu. Recristalliser dans l'éthanol (~ 20 mL.g<sup>-1</sup>).

### Synthèse micro-ondes

Placer dans un réacteur en Téflon® les mêmes quantités que précédemment et mettre à chauffer sous 1000 W, en 4 x 20 secondes (on peut aussi utiliser un erlenmeyer de 250 mL recouvert d'un entonnoir. **Attention à bien agiter entre chaque chauffage et toujours surveiller l'erlenmeyer**). Traiter le brut réactionnel obtenu de la même manière que précédemment et recristalliser. Effectuer un premier chauffage de 10 secondes, puis chauffer par période de 5 secondes jusqu'à dissolution complète. Laisser refroidir puis plonger dans un bain de glace. Filtrer et laver à l'éthanol les cristaux obtenus.

### Synthèse version microchimie

Utiliser les mêmes proportions que pour les autres manipulations, mais les quantités devront être divisées par 2 ou par 5 selon le matériel disponible. Effectuer les mêmes traitements que pour les manipulations précédentes.

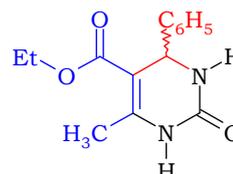
### Analyses et résultats

Le produit obtenu peut être analysé en prenant sa température de fusion (la valeur tabulée étant de 206-207 °C). L'analyse du brut et du produit recristallisé peut être faite par chromatographie sur couche mince (CCM, acétate d'éthyle/éther de pétrole : 80/20 (V/V)), par CLHP (colonne Wakosil C18 ; 250\*4,6, eau/acétonitrile 30/70, 2,0 mL.min<sup>-1</sup>, t = 30 °C) et par spectroscopie IR. Les résultats diffèrent assez peu selon la méthode utilisée. Les rendements bruts ( $\rho_{\text{brut}}$ ) obtenus sont compris entre 65 et 85 %. Les rendements de recristallisation sont supérieurs à 80 % [36]. Les températures de fusion obtenues sont comprises entre 200 et 205 °C (ce qui est proche de la valeur tabulée à moins de 2 %). Le produit recristallisé donne un unique pic lors de l'analyse par CLHP. Des analyses ont été effectuées en

IES-SM [37], RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, RMN COSY 2D <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (voir annexes 2 et 3\*).

### Choix des catalyseurs utilisés ultérieurement

Les catalyseurs suivants ont été utilisés : FeCl<sub>3</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, SnCl<sub>2</sub>, CuCl, CuCl<sub>2</sub>, CoCl<sub>2</sub>, NiCl<sub>2</sub>, AlCl<sub>3</sub> et MnCl<sub>2</sub>. Le protocole est le même que précédemment en microchimie, avec comme quantités initiales : 300 mg (5 mmol) d'urée, 0,5 mL (5 mmol) de benzaldéhyde, 1,0 mL (5 mmol) d'acétoacétate d'éthyle, 2,0 mL d'éthanol [38] et 0,5 mmol de catalyseur. La sélection de catalyseurs se fait sur la préparation de la molécule suivante :



Les résultats sont consignés dans le *tableau II*. Les températures de fusion mesurées sont comprises entre 201 et 209 °C. Ces résultats montrent que les réactions se font avec de bons rendements lorsque l'on utilise CuCl<sub>2</sub>, AlCl<sub>3</sub> et FeCl<sub>3</sub>. Nous garderons ces deux derniers, avec HCl pour la synthèse parallèle qui suit.

### Synthèse parallèle avec les catalyseurs sélectionnés

Comme la réaction de Biginelli fait intervenir un aldéhyde, un β-cétoester et de l'urée ou assimilé, nous avons utilisé l'ensemble des produits disponibles au laboratoire, en prenant garde à limiter l'emploi de produits trop toxiques. Les essais sont résumés sur la *figure 3*. Suite aux résultats obtenus précédemment, les trois catalyseurs retenus sont : HCl, AlCl<sub>3</sub> et FeCl<sub>3</sub>.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le *tableau III* (p. 47). On constate que certains essais n'ont pas donné de résultats concluants (absence de solide, obtention d'huiles...).

### Analyse dans le contexte de la chimie verte

L'environnement est désormais au centre des préoccupations des mondes économique et industriel. La « chimie verte » s'attache avant tout à produire en minimisant les déchets, en réduisant au maximum l'emploi de produits toxiques et en utilisant des réactions rapides et efficaces [42]. Il y a un peu plus de quinze ans, plusieurs chercheurs ont proposé des paramètres permettant de

Tableau II - Criblage des catalyseurs de la réaction de Biginelli.

Essai n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Catalyseur	FeCl <sub>3</sub> [39]	ZnCl <sub>2</sub>	SnCl <sub>2</sub>	CuCl	CuCl <sub>2</sub>	CoCl <sub>2</sub>	NiCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	MnCl <sub>2</sub>
Rendement (%)	70	34	53	50	80	20	45	90	44

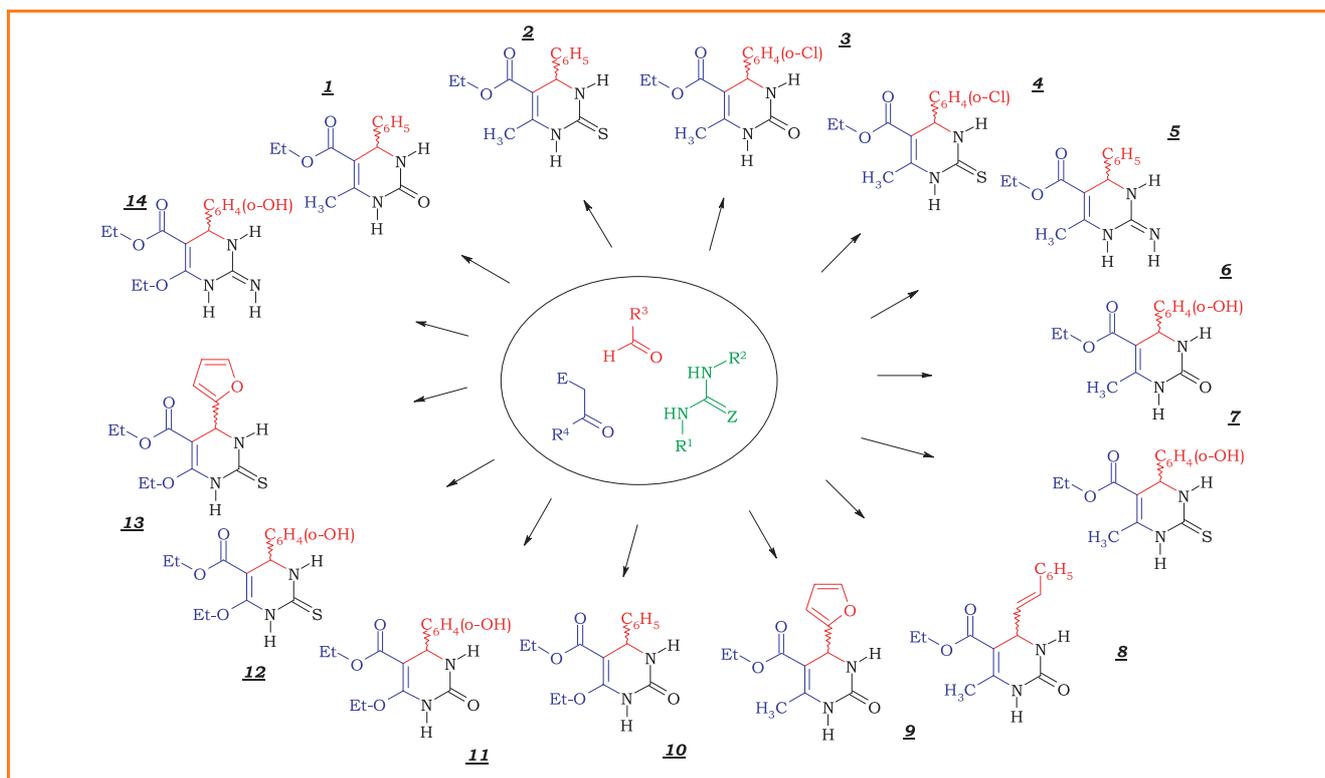


Figure 3 - Plan de travail de la synthèse.

$R^1 = \{H-\}$ ;  $R^2 = \{H-\}$ ;  $R^3 = \{Ph-, (o-Cl)C_6H_4-, (o-OH)C_6H_4-, Ph-CH=CH-, C_4H_4O-\}$ ;  $R^4 = \{CH_3-, EtO-\}$ ;  $E = \{EtOCO-\}$ ;  $Z = \{O; S; NH\}$ .

quantifier dans quelle mesure une réaction peut être labellisée « verte » [43]. Nous avons choisi d'appliquer les principaux paramètres rencontrés dans le domaine de la « Green Metric » à l'exemple de la réaction de Biginelli [44].

Nous proposons en *annexe 4\** une feuille de calcul [45] paramétrée de façon à effectuer les calculs et générer des graphiques. L'heptagramme de la *figure 4* reprend les valeurs suivantes : économie de carbone ( $E_C$ ), économie d'atomes ( $E_{At}$ ), rendement ( $r$ ), efficacité massique de réaction (EMR), paramètre de récupération de matière (PRM<sub>m</sub>), bilan danger et bilan toxicité, une valeur de 1 étant idéalement respectueuse des préceptes de la chimie verte. Le *tableau IV* (page 48) est donné en complément de cette représentation.

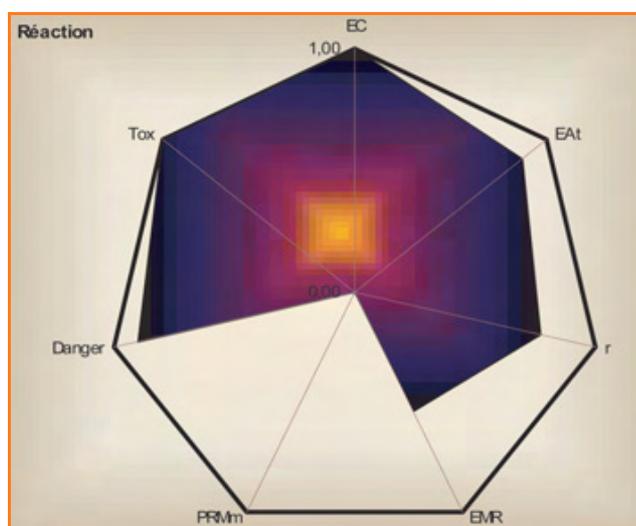


Figure 4 - Heptagramme d'analyse de la réaction de Biginelli.

### Pour finir

Les utilisations du four à micro-ondes, objet de la vie quotidienne, et de la verrerie de microchimie, version « miniature » de la verrerie courante, sont toujours très appréciées des étudiants. De plus, ce TP a permis de présenter dans le cadre innovant de la chimie combinatoire, de la synthèse parallèle et du criblage, une réaction fort intéressante. Le plus curieux dans cette condensation de Biginelli (et plus généralement de nombre de RMC) est cette sorte de spontanéité à former le produit, comme si la route était déjà tracée et la structure ciblée, alors que l'enchaînement d'étapes est, mécaniquement, tout à fait considérable. Quand parfois la simple réalisation d'une substitution nucléophile met une nuit à se faire, ici les synthèses de Biginelli sont terminées en trois minutes. L'*annexe 6\** est consacrée à l'aspect mécanistique de la réaction de Biginelli, car si cette réaction est aujourd'hui maîtrisée et très utilisée, il n'empêche qu'il n'existe pas de consensus sur le mécanisme réactionnel. Cet aspect est d'ailleurs très intéressant à faire étudier par les étudiants, notamment en les laissant chercher le mécanisme en se basant sur la réactivité des amines, des amides, des composés carbonylés et  $\beta$ -dicarbonylés.

Cette approche « synthèse parallèle » a dans l'ensemble été un succès. Après avoir testé la manipulation, choisi les conditions opératoires, le(s) catalyseur(s), la chimiothèque a été alors constituée. Certains produits ont pu être obtenus, d'autres non, c'était le jeu. Nous gardons de l'effervescence qui régnait dans les laboratoires ces jours là un très bon souvenir et espérons faire profiter, en publiant cet article, à d'autres étudiants de ces moments riches et intenses d'échanges, de recherches et d'enseignements.

Tableau III - Résultats de l'approche parallèle de la réaction de Biginelli.

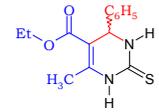
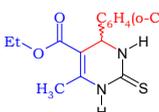
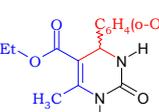
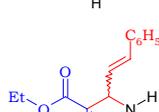
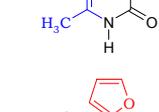
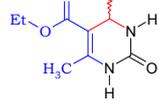
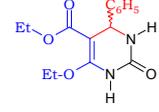
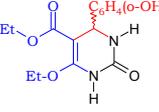
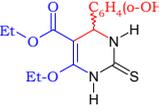
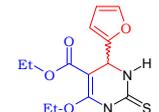
Molécule	Catalyseur	Produit obtenu	T <sub>fus</sub> (°C)	T <sub>fus litt.</sub> [40-41]	ρ <sub>brut</sub> (%)
	AlCl <sub>3</sub>	Cristaux blancs	201-204	202-203	85
	AlCl <sub>3</sub>	Cristaux blancs	206	215-218	25
	HCl	Cristaux blancs	212	215-218	30
	HCl	Cristaux violets	-	-	-
	HCl, AlCl <sub>3</sub>	-	-	-	-
	HCl, AlCl <sub>3</sub>	-	-	201-203	-
	FeCl <sub>3</sub>	Cristaux beiges	220-225	-	15
	AlCl <sub>3</sub>	Cristaux blanc crème	235-246	230-232	12
	HCl, AlCl <sub>3</sub>	-	-	-	-
	AlCl <sub>3</sub>	Cristaux blancs	254-320	-	-
	HCl	Cristaux blancs	242-245	-	-
	HCl	Cristaux blancs	220	-	41
	AlCl <sub>3</sub>	Cristaux blancs	265	-	26
	FeCl <sub>3</sub>	Cristaux blancs	255	-	11
	HCl, AlCl <sub>3</sub>	-	-	-	-
	HCl, AlCl <sub>3</sub>	-	-	-	-

Tableau IV - Bilan de l'analyse (détaillée dans l'annexe 5\*) et interprétation.

Facteur environnemental	$E_m = 0,83$	Peu de déchets	$E_m = \frac{\sum_i (m_{\text{déchets}})_i}{m_{\text{produit}}}$
Inverse du facteur stœchiométrique	$1/F_{St} = 1,24$	Réactifs proches de la stœchiométrie	
$n_{\text{réactif min}}/n_{\text{réactif max}}$	1,52		
Économie de carbone	$E_C = 1,00$	Pas de perte d'atomes de carbone	$E_C = \frac{v_{\text{produit}} \cdot n(C)_{\text{produit}}}{\sum_i  v_i  \cdot (n(C)_{\text{réactifs}})_i}$
Économie d'atomes	$E_{At} = 0,88$	Peu de perte de sous-produit	$E_{At} = \frac{v_{\text{produit}} \cdot M_{\text{produit}}}{\sum_i  v_i  \cdot (M_{\text{réactifs}})_i}$
Rendement	$\rho = 0,77$	Rendement convenable	
Bilan danger	0,90	Peu de danger	
Bilan tox	1,00	Pas d'utilisation de produits toxiques	
Bilan CMR	1,00	Pas d'utilisation de produits cancérigène, mutagène, reprotoxique (CMR)	
PRMm	0,00	Aucun recyclage	$PRM_m = \frac{\sum_i (m_{\text{recyclé}})_i}{m_{\text{totale}} - \sum_i (m_{\text{réactif}})_i}$
Efficacité massique de réaction	$EMR = 0,55$		$EMR = \frac{m_{\text{produit}}}{\sum_i (m_{\text{réactifs}})_i}$

## Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Claire Beauvineau qui a aimablement réalisé les spectres de RMN proton/carbone et les spectres CLHP-IES-SM à l'ENSCP, ainsi que Caroline Bazot pour sa patience et sa compétence.

## Notes et références

\* Nous avons choisi de présenter en annexe certains documents, sur [www.lactualitechimique.org](http://www.lactualitechimique.org), page liée à la présentation de l'article (fichier pdf téléchargeable gratuitement).

- [1] Classe de TS<sub>2</sub>C<sub>B</sub>, promotion 2007 du BTS-Chimiste de l'ENCPB, Paris.
- [2] Promotion SO14 (2006-2007), post-BTS de synthèse organique, AFTIA CFA-Id2F, ENCPB, Paris.
- [3] a) Tietze L.F., Domino reactions in organic synthesis, *Chem. Rev.*, **1996**, 96, p. 115 ; b) Tietze L.F., Brasche G., Gericke K.M., *Domino Reactions in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, **2006**, partiellement disponible sur <http://books.google.fr>, consulté le 14 nov. 2007 ; c) Nicolaou K.C., Edmonds D.J., Bulger P.G., Cascade reactions in total synthesis, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, p. 7134.
- [4] On distingue les réactions domino ou cascade des réactions tandem. Les réactions tandem sont caractérisées par l'existence de deux étapes clés avec formation d'un intermédiaire isolable. Ce sont souvent deux réactions qui se font dans le même milieu, en « one pot », de façon consécutive, séquentielle. Les réactions cascade (ou domino) se font en une étape, sans intermédiaire isolable, et résultent d'une succession de modifications structurales se faisant souvent de façon concertée. Le terme de domino implique une certaine fluidité de la réaction.
- [5] a) Zhu J., Bienaymé H., *Multicomponent Reactions*, **2005**, Wiley-VCH ; b) Simon C., Constantieux T., Rodriguez J., Utilisation of 1,3-dicarbonyl derivatives in multicomponent reactions, *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, p. 4957 ; c) Sapi J., Laronze J.-Y., Indole based multicomponent reactions towards functionalized heterocycles, *Arkivoc*, **2004**, vii, p. 208.
- [6] Pietro Biginelli est né à Palazzolo Vercelesse, dans le Piémont, le 25 juillet 1860 et est mort à Rome le 15 janvier 1937. Il était l'assistant de Hugo (Ugo) Schiff (1834-1915) à l'Université de Florence. H. Schiff, élève de Friedrich Wöhler, est connu pour ses travaux sur les imines (les bases de Schiff) et du réactif qui porte son nom. Il s'était réfugié en Italie pour des raisons politiques. a) Biginelli P., *Gazz. Chim. Ital.*, **1893**, 23, p. 360 ; b) Biginelli P., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1891**, 24, p. 1317 et *ibid* p. 2962 ; c) Biginelli P., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1893**, 26, p. 447. Deux de ces textes sont reproduits dans l'annexe 1\*.
- [7] a) Laurent A., Gerhardt C.F., *Ann. Chim. Phys.*, **1838**, 66, p. 181 ; b) Laurent A., Gerhardt C.F., Indifférente organische Stoffe. Analysen von Pflanzen und Pflanzentheilen. Ueber einige Stickstoffverbindungen des Benzoyls, *Liebigs Ann. Chem.*, **1838**, 28, p. 265. Ces travaux de Laurent et Gerhardt feront prochainement l'objet d'un article.
- [8] Strecker A., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1850**, 75, p. 27 (texte partiellement reproduit dans l'annexe 1\*) et **1854**, 91, p. 349.
- [9] Cette synthèse, en 1850, fait par ailleurs écho à la synthèse de l'urée de Friedrich Wöhler (1828) et aux travaux de Marcellin Berthelot en contribuant à détrôner l'idée de l'existence d'une force vitale. C'est en 1875 qu'Emil Erlenmeyer (1825-1909) étendra cette réaction à l'ensemble des acides aminés.
- [10] Synthèse des dihydropyridines: a) Hantzsch A., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1882**, 215, p. 1 (première page reproduite dans l'annexe 1\*) ; b) Hantzsch A., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1890**, 23, p. 1474 (texte reproduit dans l'annexe 1). La réaction de Hantzsch est exploitée notamment pour la synthèse de la nifédipine, un antihypertenseur.
- [11] Mannich C., Krosche W., *Arch. Pharm.*, **1912**, 250, p. 647. La réaction de Mannich a servi à une des premières réactions cascade, celle de la tropanone de Robison en 1917 (voir annexe 1\*). Pour une revue sur l'utilisation contemporaine de la réaction de Mannich: Arend M., Westermann B., Risch N., Modern variants of the Mannich reaction, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, 37, p. 1044.
- [12] Passerini M., *Gazz. Chim. Ital.*, **1921**, 51, p. 126 et 181.
- [13] Gautier A., *Ann. Chim. Phys.*, **1869**, 17, p. 103 (premières pages reproduites dans l'annexe 1\*).
- [14] Radziszewski B., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1882**, 15, p. 1499.
- [15] Bucherer H.T., Steiner W., *J. Prakt. Chem.*, **1934**, 140, p. 24.
- [16] Voir [34], article Bataille X. et coll., p. 43-44.
- [17] a) Ugi I., Meyr R., *Angew. Chem.*, **1958**, 70, p. 702 ; b) Dömling A., Ugi I., Multicomponent reactions with isocyanides, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2000**, 39, p. 3168.
- [18] On peut également mentionner la réaction de Pétaisis. Voir Zhu J., Bienaymé H., *Multicomponent Reactions*, **2005**, Wiley-VCH, p. 199-223.
- [19] a) Michelet D., Hélène C., La synthèse combinatoire, *Pour la Science*, **1997**, 241, p. 50 ; b) Plunkett M., Ellman J., Chimie combinatoire et nouveaux médicaments, *Pour la Science*, **1997**, 236, p. 72 ; c) Smith M., Les chimistes jouent aux billes, *La Recherche*, **1997**, 298, p. 49.
- [20] Baudelle R., Chimie combinatoire, *Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation*, **2000**, P3270.
- [21] a) Ortholand J.-Y., La chimie combinatoire dans la découverte de nouveaux médicaments, 10 ans d'apprentissage, *L'Act. Chim.*, n° spécial *Quoi de neuf en chimie organique...*, avril-mai **2003**, p. 103 ; b) La chimie combinatoire, *L'Act. Chim.*, n° spécial, sept. **2000**.
- [22] a) Kappe O.C., Recent advances in the Biginelli dihydropyrimidines synthesis. New tricks from an old dog, *Acc. Chem. Res.*, **2000**, 33,

- p. 879 ; b) Kappe O.C., 100 years of the Biginelli dihydropyrimidine synthesis, *Tetrahedron*, **1993**, *49*, p. 6937.
- [23] a) Aron Z.D., Overman L.E., The tethered Biginelli condensation in natural product synthesis, *Chem. Comm.*, **2004**, p. 253 ; b) Nicholas G.M., Phillips A.J., Marine natural products: synthetic aspects, *Nat. Prod. Rep.*, **2006**, *23*, p. 79 ; c) Nilsson B.L., Overman L.E., Concise synthesis of guanidine-containing heterocycles using the Biginelli reaction, *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*(20), p. 7706.
- [24] À l'instar des taxoïdes, le *monastrol* est un agent bloquant la division cellulaire par l'inhibition d'une protéine moteur : la kinésine Eg5. Maliga Z., Mitchison T.J., Small-molecule and mutational analysis of allosteric Eg5 inhibition by monastrol, *BMC Chemical Biology*, **2006**, *6*, p. 1.
- [25] a) Franklin A.S., Ly S.K., Mackin G.H., Overman L.E., Shaka A.J., Application of the tethered Biginelli reaction for enantioselective synthesis of batzelladine alkaloids. Absolute configuration of the tricyclic guanidine portion of batzelladine B, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, p. 1512 ; b) Olszewski A., Sato K., Aron Z.D., Cohen F., Harris A., McDougall B.R., Robinson W.E., Overman L.E., Weiss G.A., Guanidine alkaloid analogs as inhibitors of HIV-1 Nef interactions with p53, actin, and p56lck, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2004**, *101*, p. 14079 ; c) Elliott M.C., Long M.S., Studies towards the total synthesis of batzelladine A, *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, *2*, p. 2003.
- [26] a) Kappe O.C., Dallinger D., Stadler A., Solid- and solution-phase synthesis of bioactive dihydropyrimidines, *Pure Appl. Chem.*, **2004**, *76*(5), p. 1017 ; b) Synthèse d'analogues de Biginelli sous micro-ondes : Liang B., Wang X., Wang J.-X., Du Z., New three-component cyclocondensation reaction: microwave-assisted one-pot synthesis of 5-unsubstituted-3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones under solvent-free conditions, *Tetrahedron*, **2007**, *63*, p. 1981 ; c) Desai B., Dallinger D., Kappe O.C., Microwave-assisted solution phase synthesis of dihydropyrimidine C5 amides and esters, *Tetrahedron*, **2006**, p. 4651.
- [27] Zhidovinova M.S., Fedorova O.V., Rusinov G.L., Ovchinnikova I.G., Sonochemical synthesis of Biginelli compounds, *J. Russian Chem. Bull. Int. Ed.*, **2003**, *52*, p. 2527.
- [28] Karade H.N., Sathe M., Kaushik M.P., Synthesis of 4-aryl substituted 3,4-dihydropyrimidinones using silica-chloride under solvent free conditions, *Molecules*, **2007**, *12*, p. 1341.
- [29] Polshettiwar V., Varma R.S., Biginelli reaction in aqueous medium: a greener and sustainable approach to substituted 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones, *Tet. Let.*, **2007**, *48*, p. 7343.
- [30] Chen X.-H., Xu X.-Y., Liu H., Cun L.-F., Gong L.-Z., Highly enantioselective organocatalytic Biginelli reaction, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, p. 14802.
- [31] Holden M.S., Crouch D., The Biginelli reaction, *J. Chem. Ed.*, **2001**, *78*, p. 1104.
- [32] a) Balalaie S., Soleiman-Beigi M., Rominger F., Novel one-pot synthesis of new derivatives of dihydropyrimidinones, unusual multisubstituted imidazole-2-ones: X-ray crystallography structure, *J. Iranian Chem. Soc.*, **2005**, *2*(4), p. 319 ; b) Capanec I., Litvić M., Filipan-Litvić M., Grünigold I., Antimony(III) chloride-catalysed Biginelli reaction: a versatile method for the synthesis of dihydropyrimidinones through a different reaction mechanism, *Tetrahedron*, **2007**, *63*, p. 11822 ; c) Simon C., Constantieux T., Rodriguez J., Utilisation of 1,3-dicarbonyl derivatives in multicomponent reactions, *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, p. 4957 ; d) Adibi H., Samimi H.A., Beygzadeh M., Iron(III) trifluoroacetate and trifluoromethanesulfonate: Recyclable Lewis acid catalysts for one-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidinones or their sulfur analogues and 1,4-dihydropyridines via solvent-free Biginelli and Hantzsch condensation protocols, *Catalysis Comm.*, **2007**, *8*, p. 2119 ; e) Kamal A., Krishnaji T., Azhar M.A., Copper(II) tetrafluoroborate as a mild and efficient catalyst for the one-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones under solvent-free conditions, *Catalysis Comm.*, **2007**, *8*, p. 1929 ; f) Russowsky D., Lopes F.A., da Silva V.S.S. et al., Multicomponent Biginelli's synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones promoted by SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, *J. Braz. Chem. Soc.*, mars-avril **2004**, *15*(2), p. 165.
- [33] Pour plus d'informations : a) Bataille X., Przedpelska E., Ziminska M., Synthèses multi-étapes sous micro-ondes en solvant ou sur support solide en « milieu sec », *L'Act. Chim.*, **2005**, *292*, p. 40 et réf. citées ; b) *Microwaves in Organic Synthesis*, A. Loupy (ed.), 2 vol., **2006**, en particulier le chapitre de Didier Stuergea : Microwave-material interactions and dielectric properties, key ingredients for mastery of chemical microwave Processes, p. 1 ; c) Kappe O.C., Controlled microwave heating in modern organic synthesis, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, p. 6250.
- [34] Cheymol N., Hoff M., *La microchimie, Techniques et Expériences*, De Boeck, **1999**. Partiellement disponible sur <http://books.google.fr>, consulté le 14 nov. 2007.
- [35] **Matériel** : les synthèses par activation micro-ondes ont été réalisées dans un four domestique multimode, 2,45 GHz, Samsung M-192 DN, 1 kW. Le spectroscopie FTIR est un Avatar 320 FT-IR de chez Thermo Nicolet. Les analyses de spectrométrie de masse sont effectuées sur un appareil Shimadzu, LCMS-2010 A, équipé d'un détecteur UV à barrette de diodes SPD-M10 A (lampe D2, balayage de 190 à 400 nm), d'un détecteur de masse LCMS-2010 A (ESI) et d'un détecteur à diffusion de lumière ELSA-LT [46]. La colonne utilisée est une colonne analytique Alltech (C<sub>8</sub>, phase inverse, l = 53 mm, d.i. = 7 mm). La chromatographie liquide est effectuée avec un débit de 1 mL.min<sup>-1</sup>, avec pour éluant un gradient eau (eau qualité HPLC + acide formique 0,1 %)/acétonitrile (CH<sub>3</sub>CN qualité HPLC + acide formique 0,1 %). Les conditions du gradient sont les suivantes : t = 0-1 min : 30 % en CH<sub>3</sub>CN ; t = 1-5 min : passage de 30 à 100 % en CH<sub>3</sub>CN ; t = 5-12 min : 100 % en CH<sub>3</sub>CN ; t = 12-14,99 min : passage de 100 à 30 % en CH<sub>3</sub>CN et t = 14,99-20 min : 30 % en CH<sub>3</sub>CN. L'échantillon est dissout dans l'éluant utilisé en début d'analyse. Les spectres RMN sont enregistrés sur un spectromètre Advance DRX Bruker, à 300,13 MHz pour le <sup>1</sup>H et 75,47 MHz pour le <sup>13</sup>C, découplé du proton. Les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (TMS). Les constantes de couplage sont exprimées en hertz (Hz). Les échantillons ont été dissous dans du DMSO avant d'être analysés.
- [36] Il est important de montrer alors l'intérêt de la synthèse par activation micro-ondes : elle est très simple à mettre en œuvre, ne nécessite pas de montage et est beaucoup plus rapide, mais présente des dangers à savoir maîtriser. Voir [33], article Bataille X. et coll., p. 42-43.
- [37] CLHP-IES-SM : technique couplant une CLHP à un spectromètre de masse avec une source d'ionisation par électrospray (IES).
- [38] Utiliser de l'éthanol à 95 % excepté pour AlCl<sub>3</sub>.
- [39] La quantité de catalyseur est ici de 5 % et non de 10 %.
- [40] Tu S. Fang F., Miao C., Jiang H., Feng Y., Shi D., Wang X., One-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones using boric acid as catalyst, *Tet. Let.*, **2003**, *44*, p. 6153.
- [41] Karade H.N., Sathe M., Kaushik M.P., Synthesis of 4-aryl substituted 3,4-dihydropyrimidinones using silica-chloride under solvent free conditions, *Molecules*, **2007**, *12*, p. 1343.
- [42] Voir par exemple : Sheldon R.A., Arends I., Hanefeld U., *Green Chemistry and Catalysis*, Wiley-VCH, **2007**.
- [43] a) Constable D.J.C., Curzons A.D., Cunningham V.L., Metrics to "green" chemistry – which are best?, *Green Chem.*, **2002**, *4*, p. 521 ; b) Curzons A.D., Constable D.J.C., Mortimer D.N., Cunningham V.L., So you think your process is green, how do you know? – Using principles of sustainability to determine what is green – A corporate perspective, *Green Chem.*, **2001**, *3*, p. 1.
- [44] Ce texte est inspiré des travaux de John Andraos publié dans le *Journal of Chemical Education* de juin 2007 : Andraos J., On the use of « Green » Metrics in the undergraduate organic chemistry lecture and lab to assess the mass efficiency of organic reactions, *J. Chem. Ed.*, **2007**, *84*, p. 1004. Les concepts sont rappelés dans l'annexe 5\*. Certains de ces paramètres ont été modifiés de façon à en simplifier leur utilisation dans un contexte pédagogique. Voir aussi : Augé J., La chimie au cœur du développement durable, *L'Act. Chim.*, **2007**, *314*, p. 44 et Lattes A., La chimie et le développement durable, *L'Act. Chim.*, **2008**, *325*, p. 19.
- [45] Cette feuille de calcul peut être utilisée dans le cadre de préparation de travaux pratiques mais aussi dans l'enseignement de la synthèse organique. Également disponible sur le site de Ressources Nationales de Chimie (RNChimie) : [www.educnet.education.fr/rnchimie/chi\\_org/xb/Chimieverte.pdf](http://www.educnet.education.fr/rnchimie/chi_org/xb/Chimieverte.pdf).
- [46] L'analyse faite ici consiste en une séparation en CLHP suivie d'une analyse par spectrométrie de masse (couplage LC-MS) : l'ionisation s'effectue par électrospray (ESI : « electrospray ionization ») puis est détectée par ELSD (« evaporative light scattering detector », méthode qui permet la détection de molécules ne comportant pas de groupements chromophores). L'intérêt de cette détection, par rapport à la détection UV, est que la réponse est proportionnelle à la quantité d'échantillon détecté avec le même coefficient de réponse quel que soit le composé.



X. Bataille



E. Beauveineau

**Xavier Bataille** (auteur correspondant) et **Erwan Beauveineau** sont professeurs agrégés à l'École Nationale de Chimie, Physique et Biologie (ENCPB, Paris)\*. Ils ont reçu conjointement en 2008 le **prix spécial CNRS-division Enseignement-Formation de la SCF** qui couronnait la conception d'un travail expérimental pédagogique illustrant les préceptes d'une chimie soucieuse de l'environnement.

\* ENCPB, 11 rue Pirandello, 75013 Paris.  
Courriel : [xavierbataille@free.fr](mailto:xavierbataille@free.fr)

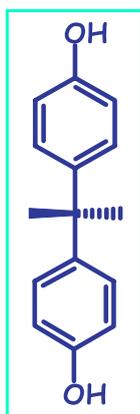
# Le bisphénol A

## Une molécule au banc des accusés

Roselyne Messal

On a beaucoup entendu parler du bisphénol A l'an passé, lors de l'affaire très médiatisée des biberons au Canada. En France, pour alerter pouvoirs publics et citoyens, le Réseau Environnement Santé (RES) (*encadré 1*) a lancé en mars dernier sa première campagne intitulée « Alerte sur le bisphénol A dans les plastiques alimentaires ».

### L'accusé



Le bisphénol A – BPA, ou 4,4'-dihydroxy-2,2-diphénylpropane (nomenclature IUPAC) – est un composé organique aromatique, issu de la réaction de deux molécules de phénol pour une d'acétone. C'est A.P. Dianin qui, en 1891, en réalisa la première synthèse chimique. Cette molécule fut très étudiée dans les années 1930 au cours de la recherche d'œstrogènes de synthèse, puis abandonnée au profit d'un autre composé aux propriétés plus intéressantes [1].

On la retrouve aujourd'hui dans la fabrication des polymères de type polycarbonate et des résines époxydes, comme antioxydant dans les plastifiants et le PVC, et comme inhibiteur de polymérisation dans le PVC. Le polycarbonate

est utilisé dans de nombreux objets usuels (DVD, lunettes et lentilles de contact, matériel médical) et dans les emballages alimentaires (bouteilles d'eau, biberons). Toutefois, si le bisphénol A est le principal composant du polycarbonate, il n'existe plus en tant que tel sur le produit

fini, si ce n'est en quantité résiduelle infime puisqu'il a été polymérisé [2]. Les résines époxydes sont utilisées principalement en tant que revêtement (intérieur des boîtes de conserve et des canettes). Quelques matières plastiques pouvant être en contact avec les produits alimentaires sont données dans l'*encadré 2*, avec leur code de recyclage.

Sur le marché des biberons, le polycarbonate s'est très largement imposé depuis près de 40 ans car il présente des qualités inégalées comparées à celles des autres matériaux polymères : transparence, solidité, meilleure résistance à la chaleur [2]. En France en 2008, 90 % des biberons vendus étaient en polycarbonate [1].

### Coupable ou non coupable ?

De nombreuses études scientifiques prouvent que le bisphénol A, présent à très faibles doses dans ces plastiques, diffuse dans leur contenu, et ce que le récipient soit neuf ou déjà utilisé et lavé plusieurs fois, et plus significativement s'il est utilisé pour contenir des produits acides ou des liquides à hautes températures [3-4].

On sait aussi que la molécule pénètre l'environnement par les eaux usées et les résidus de lavage, se décomposant lentement lorsqu'il y a manque d'oxygène, ce qui pourrait être néfaste pour les poissons et autres organismes [5].

Lors d'études menées aux États-Unis, les dosages urinaires effectués sur la population américaine ont montré la présence de bisphénol A pour plus de 90 % des personnes testées [3, 6]. Or cette molécule est suspectée d'avoir des effets sur le corps humain, même à très faibles doses.

À l'origine de la découverte des effets du bisphénol A : deux biologistes américains<sup>(1)</sup> qui, en 1987, ont remarqué que la lignée cellulaire de cancer du sein sur laquelle ils travaillaient proliférait de manière aberrante. Le coupable est identifié en 1991 : le para-nonylphénol, un additif du polystyrène. Ce composé agissait comme une hormone, stimulant la croissance des cellules malignes [7]. Par la suite, ces chercheurs seront amenés à se pencher sur le cas du BPA.

Lors de la conférence de presse donnée à l'occasion du lancement du Réseau le 3 mars dernier, son président, André Ciccollella, chimiste toxicologue, chercheur en santé environnementale et conseiller à la direction scientifique de l'INERIS, rappelait qu'avec plus de 600 études répertoriées à l'heure actuelle, on ne manquait pas de données sur les effets du bisphénol A, et que toutes les études menées chez l'animal montraient que cette molécule se comportait comme un perturbateur hormonal. Si les études menées chez l'Homme sont plus rares, elles montrent néanmoins les effets indésirables du BPA qui est impliqué dans des affections aussi

#### Encadré 1

### Le Réseau Environnement Santé

Soutenu par le réseau européen HEAL (Health and Environment Alliance), il regroupe des ONG, de nombreux scientifiques (parmi lesquels des chimistes), des associations, des professionnels de la santé et des associations de malades : Alliance pour la Planète, WWF France, Fondation Sciences Citoyennes, MDRGF (Mouvement pour le droit et le respect des générations futures), Fac Verte, Objectif Bio et Nord Écologie Conseil, la CNMSE (Coordination Nationale Médicale Santé Environnement), le C2DS (Comité pour le Développement Durable en Santé) et SOS MCS (Association des Personnes atteintes du Syndrome d'Hypersensibilité Chimique Multiple), WECF (Women in Europe for Common Future).

Extraits de l'Appel du RES : « Première cause de mortalité, le cancer frappe aujourd'hui un homme sur deux et une femme sur trois. Son incidence a doublé en 25 ans. Le cancer de l'enfant progresse, preuve que le phénomène n'est pas la simple conséquence du vieillissement. L'obésité et le surpoids touchent maintenant un tiers de la population, générant un ensemble de maladies chroniques, et au premier chef, le diabète dont le nombre a doublé en dix ans. »

« Nous affirmons qu'il est grand temps de changer de logique et de considérer comme primordiale la relation de l'Homme à son écosystème, afin de faire du lien environnement-santé le cœur de la politique de santé et de la politique de l'environnement. »

• [www.reseau-environnement-sante.fr](http://www.reseau-environnement-sante.fr)

## Encadré 2

## Pour reconnaître quelques matières plastiques

Le plastique devant être trié pour mieux être recyclé, un système d'identification a été établi (Décision européenne 97/129/CE, 28/01/1997). Le code de recyclage se trouve au centre d'un triangle visible en dessous du produit [d'après Wikipédia et Elipso, Les entreprises de l'emballage plastique et souple].

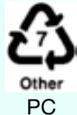
Code de recyclage	Plastique	Quelques utilisations
1 PET	Polyéthylène téréphtalate	Bouteilles d'eaux minérales, boissons gazeuses et jus de fruits, huile, vinaigre, sirop, barquettes
2 HDPE	Polyéthylène de haute densité	Bouteilles de lait, de jus de fruits, sachets
3 PVC	Polychlorure de vinyle	Canalisations Films alimentaires, boîtes, bouteilles
4 LDPE	Polyéthylène de basse densité	Flacons pressables, sachets et films alimentaires, barquettes
5 PP	Polypropylène	Récipients alimentaires, pots de yaourts et de crème glacée
6 PS	Polystyrène	Barquettes, flacons, pots pour produits laitiers, vaisselle jetable
 7 Other PC	Autres dont le polycarbonate	<b>Biberons, vaisselle, bouteilles réutilisables et bonbonnes d'eau</b>



Photo : R. Messal.

On retrouve le bisphénol A principalement dans le polycarbonate (code 7) et dans une moindre mesure dans les plastiques identifiés sous les codes 3 et 6 [3].

variées et actuelles que les problèmes de reproduction (baisse de la qualité du sperme, fausses couches), l'obésité, les cancers du sein et de la prostate, le diabète, les dysfonctionnements thyroïdiens, les troubles déficitaires de l'attention chez les enfants [8-9]. On pense que l'exposition en bas âge pourrait augmenter une prédisposition aux cancers en affectant la programmation génétique du développement des individus [3].

La contamination humaine se fait essentiellement par ingestion et on considère actuellement que la molécule n'est pas stockée dans l'organisme. Dans le cas contraire, quelles en seraient les conséquences ? Comme pour toute substance chimique, tout dépend bien sûr du dosage et de la durée d'exposition. Pour exemple, une étude a montré qu'un biberon chauffé un court instant à 100 °C libérait un taux de bisphénol A 55 fois plus élevé qu'à température ambiante [4]... des données inquiétantes qui appellent à la vigilance.

Suite aux nombreuses études menées chez l'Homme et l'animal, un comité d'experts américains déclarait en août 2007 que le bisphénol A pourrait causer des effets sur le système nerveux des fœtus et des enfants [8] et plusieurs scientifiques se disent préoccupés par la possibilité d'effets chez l'Homme [10]. La même année, l'autorité européenne de sécurité des aliments<sup>(2)</sup>, prenant acte de la présence de bisphénol A dans les canalisations de transport d'eau potable, préconisait que des études soient menées sur l'éventuelle propagation de cette substance dans l'eau [1]. Après l'examen de quelques 200 nouvelles études, elle fixait alors la dose journalière admissible (DJA) à 0,05 mg/kg de poids corporel – ceci correspondrait à la quantité de BPA qu'un consommateur (y compris les bébés et les nourrissons) peut ingérer sans danger et sans dommage sur une vie entière [11]. La DJA est une estimation dont les

valeurs ont été déterminées par différents groupes de scientifiques sur les rongeurs et les humains, mais on sait que des différences significatives existent entre ces deux groupes, rendant difficiles les évaluations [1, 3].

En avril 2008, estimant qu'il y a un risque préoccupant pour le nouveau-né, l'Office public de santé du Canada classe le bisphénol A au rang de substance dangereuse. Ce pays est le premier à prendre des mesures dans le cadre de son plan de gestion des produits chimiques et à appliquer le principe de précaution (voir encadré 3). Ce qui amène les États-Unis et l'Union européenne à reconsidérer le risque.

Dans sa mise à jour du rapport d'évaluation des risques sur le bisphénol A publiée en juin 2008, la Commission européenne conclut que les matières plastiques contenant du BPA (polycarbonate et résines époxydes) sont sans danger pour les consommateurs et l'environnement lorsqu'elles sont utilisées dans les règles de l'art [11]. Les experts scientifiques de l'Union européenne ont examiné plusieurs centaines d'études publiées ces dernières années. Leur rapport rejoint celui d'août 2008 de la Food and Drug Administration américaine qui conclut que le produit ne pose pas de problème de santé humaine aux niveaux d'exposition habituels pour l'Homme. Ce constat n'est pas partagé par certains scientifiques qui remettent en cause la validité de la dose journalière tolérable [3].

Octobre 2008, le Canada préconise d'interdire les biberons contenant du BPA... tout en rassurant sa population (encadré 3). En France, dans un communiqué du 13 novembre 2008, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) s'aligne sur les conclusions de l'agence européenne selon lesquelles l'exposition des nourrissons au bisphénol A est largement inférieure à la dose journalière tolérable (DJT), et ce même en cas de chauffage aux micro-ondes (encadré 4).

## Encadré 3

### Le gouvernement du Canada prend des mesures

« Les recherches actuelles indiquent que le grand public n'a pas lieu de s'inquiéter. En règle générale, la plupart des Canadiens sont exposés à des niveaux très bas de bisphénol A, ce qui signifie qu'il n'y a pas de risque pour la santé. Nous nous penchons maintenant sur la santé des nouveau-nés et des nourrissons âgés de moins de 18 mois. La science nous suggère que les niveaux d'exposition sont inférieurs à ceux qui pourraient entraîner des effets sur la santé. Toutefois, compte tenu de l'incertitude soulevée dans certaines études sur les effets potentiels de faibles niveaux de bisphénol A, le gouvernement du Canada prend des mesures afin de protéger davantage les nourrissons et les jeunes enfants.

Des études révèlent que la principale source d'exposition chez les nouveau-nés et les nourrissons est le bisphénol A, qui migre du revêtement intérieur des boîtes vers la préparation liquide pour nourrissons et qui migre des biberons en polycarbonate vers le liquide à l'intérieur suivant l'ajout d'eau bouillante. Par conséquent, le gouvernement du Canada continuera de veiller à ce que le BPA présent dans les préparations pour nourrissons soit maintenu au plus bas niveau [...]. Par ailleurs, nous évaluerons aussi des solutions de rechange au BPA présent dans le revêtement interne des boîtes, selon les priorités.

Le gouvernement du Canada compte faire adopter des mesures législatives pour interdire l'importation, la vente et la publicité des biberons en polycarbonate [...]

#### Conseils à l'intention des Canadiens

Le bisphénol A ne présente aucun risque pour la population en général, y compris les adultes, les adolescents et les enfants. Les consommateurs peuvent continuer d'utiliser des bouteilles d'eau en polycarbonate et de consommer des aliments et des boissons en conserve, car les taux d'exposition découlant de ces produits sont très faibles. [...] Si les Canadiens s'inquiètent de la contamination par le bisphénol A des aliments chauffés dans ces contenants, ils peuvent opter pour des articles en verre, faciles à trouver [...]

#### Conseils aux parents et aux surveillants d'enfants

Si vous continuez d'utiliser des biberons en polycarbonate, on vous recommande de ne pas y verser de l'eau bouillante. Lorsque le bisphénol A entre en contact avec de l'eau très chaude, il se dégage de la bouteille à un taux beaucoup plus élevé. Faites bouillir l'eau et laissez-la refroidir dans un contenant sans polycarbonate avant de la transférer dans des biberons. [...] Les biberons ne doivent pas être réchauffés au four à micro-ondes car le liquide pourrait se réchauffer de façon inégale et causer des brûlures à votre nourrisson. [...] Si les parents [...] sont toujours inquiets à propos des biberons en polycarbonate, il existe plusieurs solutions de rechange [...].

Extrait du site « Substances chimiques » du Gouvernement du Canada (mise à jour : 17 octobre 2008) [5].

Pour les biberons en France, le standard français<sup>(3)</sup> pose une limite de sensibilité (LMS) très basse de 30 ng/kg, soit une norme vingt fois plus basse que la LMS de l'Union européenne [1]. En outre, certains fabricants de biberons n'ont pas attendu l'affaire canadienne pour commercialiser des biberons sans bisphénol A (c'est notamment le cas des biberons Dodie « Initiation » et « Évolution » fabriqués depuis 2005 en polypropylène [12]).

### Au nom du principe de précaution...

Devant tant d'incertitudes et face aux graves interrogations que pose le développement de certaines nouvelles technologies – les champs électromagnétiques, les OGM, les nanotechnologies –, plusieurs associations se sont regroupées au sein du Réseau Environnement Santé dont l'objectif est de replacer la santé au cœur des politiques de santé et d'environnement. Il est notamment reproché aux

## Encadré 4

### Les biberons en polycarbonate inoffensifs ?

« Dans l'Union européenne, le BPA est autorisé pour la fabrication de matériaux en contact avec les aliments avec une Limite de Migration Spécifique (LMS) de 0,6 mg/kg d'aliment (Directive 2004/19/CE). [...] La toxicité du bisphénol A a été évaluée par différentes instances internationales et d'abondants rapports et articles scientifiques ont été publiés sur ce sujet.

Parmi les plus récentes évaluations en 2006 et 2008, l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (AESa) a établi une dose journalière tolérable (DJT) de 0,05 mg/kg de poids corporel pour le bisphénol A (50 µg/kg p.c.), sur la base d'une dose sans effet indésirable observé (DSEIO) de 5 mg/kg poids corporel/jour identifiée dans une étude multi-générationnelle chez la souris. Les niveaux d'exposition des nourrissons au BPA, à travers l'alimentation infantile et l'utilisation de biberons en polycarbonate, ont été estimés dans des scénarios conservateurs à 11 µg/kg pc/j pour les nourrissons de 3 mois et à 13 µg/kg pc/j pour les nourrissons de 6 mois, niveaux inférieurs à la DJT de 50 µg/kg pc (AESa 2006) [...]

Concernant le chauffage des biberons en polycarbonate aux micro-ondes au regard du risque de transfert de bisphénol A, dans l'état actuel des connaissances et après analyse des publications et des rapports les plus récents, l'AFSSA estime que :

- Lorsque le contenu des biberons en polycarbonate est chauffé via un traitement au four à micro-ondes en conditions réalistes (durée de chauffage inférieure à 10 minutes), les quantités de bisphénol A transférable à l'aliment restent très inférieures à la valeur maximale de 50 µg de bisphénol A par litre retenue par l'AESA pour son calcul d'exposition conservateur. En conséquence, les conclusions des avis de l'AESA de 2006 et 2008 sont donc applicables à l'usage du chauffage aux micro-ondes de biberons en polycarbonate et ne justifient pas de précaution d'emploi particulière. »

Extrait de l'Avis de l'AFSSA n° 2008-SA-0141, 24 octobre 2008.

• [www.afssa.fr/Documents/MCDA2008sa0141.pdf](http://www.afssa.fr/Documents/MCDA2008sa0141.pdf)



Photo : V. Messal.

pouvoirs publics de ne pas tenir assez compte des études publiées par la communauté scientifique et on soupçonne les agences publiques et les industriels de manipuler l'information scientifique, par intérêt économique [3].

C'est pourquoi le Réseau Environnement Santé, qui favoriserait :

- une meilleure gestion des risques, avec (sans attendre) une vraie politique de substitution des substances chimiques

## Encadré 5

## PlasticsEurope répond

« PlasticsEurope en appelle aux pouvoirs publics pour raison garder dans la gestion de ce dossier. Une décision d'interdiction du BPA dans les plastiques alimentaires et son classement, dans le cadre de REACH, parmi les substances les plus préoccupantes, reviendrait pour le Gouvernement à désavouer lui-même l'AFSSA, à entamer la confiance du public dans les instances d'expertise indépendantes, à aller à l'encontre des règlements européens et à priver les mamans d'un produit pratique, sain et sûr. »  
*Extrait du communiqué de presse du 10 mars 2009.*

facteurs de risques, ce qui implique une politique d'anticipation et le développement de sciences comme la toxicologie et l'expologie<sup>(4)</sup> ;

- un vrai débat scientifique, avec des experts plus indépendants, et le respect des expertises contradictoires ;  
 - la reconnaissance du lien entre cancer et environnement, avec toutes les politiques qui pourraient en découler (dont la modification du 2<sup>e</sup> Plan national Santé Environnement).

En ce qui concerne plus particulièrement le bisphénol A, objet de sa première campagne d'alerte, le Réseau demande aux eurodéputés français de signer la pétition parlementaire d'interdiction du bisphénol A dans les biberons, et que cette interdiction soit élargie aux plastiques alimentaires en raison des risques encourus. Il réclame également que le BPA soit retenu comme substance prioritaire dans le cadre du programme REACH d'évaluations des substances chimiques les plus préoccupantes.

Le Réseau invite par ailleurs les citoyens français qui se sentent concernés à signer la pétition à destination de la ministre de la Santé et du ministre de l'Environnement pour demander l'interdiction du BPA dans les plastiques alimentaires.

Enfin pour la première fois en France, le Réseau lance un grand programme de biomonitoring auprès de femmes enceintes et de nourrissons – comme il en existe déjà en Allemagne et aux États-Unis – qui permettra d'évaluer dans les urines l'imprégnation avant et après élimination du contact avec les plastiques susceptibles de contenir du bisphénol A.

## Affaire non classée

Débats et controverses ont toujours cours. Dans un communiqué du 10 mars dernier, en réponse aux

nombreuses questions soulevées par cette molécule dans les plastiques alimentaires, PlasticsEurope, l'une des plus importantes organisations professionnelles européennes, en appelle aux pouvoirs publics pour « raison garder dans la gestion de ce dossier » (encadré 5).

Affaire à suivre donc...

## Notes et références

- (1) Ana Soto et Carlos Sonnenschein, Tufts University (Boston).
- (2) AESA ou EFSA pour « European Food Safety Authority ».
- (3) Norme NF EN 14350, décembre 2004.
- (4) L'expologie fait le lien entre la présence d'une substance toxique dans l'environnement et l'apparition du dommage, d'où la nécessité de mesurer l'exposition.
- [1] Sources : Wikipédia et Questions-Science.com.
- [2] Communiqué de PlasticsEurope, 10/03/2009.
- [3] Conférence de presse du Réseau Environnement Santé, 03/03/2009.
- [4] Questions-Science.com et réf. citée : Le H.H., Carson E.M., Chua J.P., Belcher S.M., Bisphenol A is released from polycarbonate drinking bottles and mimics the neurotoxic actions of estrogen in developing cerebellar neurons, *Toxicol. Lett.*, **2008**, 176(2), p. 149.
- [5] [www.chemicalsubstanceschimiques.gc.ca/challenge-defi/bisphenol-a\\_fs-fr\\_f.html](http://www.chemicalsubstanceschimiques.gc.ca/challenge-defi/bisphenol-a_fs-fr_f.html)
- [6] a) Wikipédia et réf. citée : Calafat A.M., Kuklenyik Z., Reidy J.A. et al, Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population, *Environ Health Perspect.*, **2005**, 113, p. 391 ; b) Questions-Science.com et réf. citée : Dekant W., Völkel W., Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: methods, results and assessment of environmental exposures, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 14 déc. **2007**.
- [7] Soto A.M., Justicia H., Wray J.W., Sonnenschein C., p-Nonyl-phenol: an estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene, *Environ Health Perspect.*, **1991**, 92(167), p. 173.
- [8] Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure, *Reproductive Toxicology*, **2007**, 24, p. 131.
- [9] [http://culturesciences.chimie.ens.fr/dossiers-chimie-societe-article-BPA\\_Levy.html](http://culturesciences.chimie.ens.fr/dossiers-chimie-societe-article-BPA_Levy.html)
- [10] Questions-science.com et réf. citée : National Toxicology Program, Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction, Expert panel evaluation of bisphenol A, 6-8 août **2007**, Rapport du comité.
- [11] [www.bisphenol-a-europe.org](http://www.bisphenol-a-europe.org) (site de PlasticsEurope).
- [12] Communiqué de Polivé Laboratoires, février **2009**.



**Roselyne Messal**

est secrétaire de rédaction  
à *L'Actualité Chimique*.

Courriel : [redaction@lactualitechimique.org](mailto:redaction@lactualitechimique.org)

Prochainement en librairie,  
dans la collection *L'Actualité Chimique - Livres* :

**LA CHIMIE ET LA MER**  
ensemble au service de l'Homme

Réservez votre journée  
pour le prochain colloque :

**CHIMIE ET ALIMENTATION**  
pour le bien-être de l'Homme

**7 octobre 2009**  
Maison de la Chimie - 28 rue Saint-Dominique, 75007 Paris

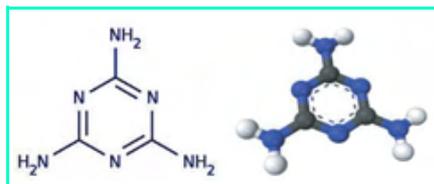


# La mélamine

## Structure, toxicité et fraude

Nicolas Lévy

### Structure



La mélamine : structure semi-développée et structure 3D.

La mélamine, ou 1,3,5-triazine-2,4,6-triamine en nomenclature IUPAC, est un composé organique dérivé de l'urée, de formule brute  $C_3H_6N_6$  qui possède une teneur élevée en atomes d'azote : 66 % en masse. Sa structure fait également apparaître un noyau aromatique – délocalisation de six électrons au niveau du cycle – rendant la molécule plane.

Cette molécule, mise au point dans les années 1930, résiste à la lumière, à la chaleur et au contact de nombreuses substances chimiques corrosives. On la trouve désormais dans nombre de plastiques, résines, colles, insecticides, engrais et même médicaments.

### Toxicité

La toxicité létale<sup>(1)</sup> de la mélamine est faible, proche de celle du sel de cuisine. Néanmoins, elle est importante à la suite d'une exposition chronique. En particulier, en cas d'ingestion répétée, on observe une chute de la fertilité ainsi que de sérieuses complications rénales, notamment la formation de calculs rénaux.

Plusieurs caractéristiques de cette molécule peuvent expliquer sa toxicité de par sa haute réactivité avec les molécules existantes dans le corps humain :

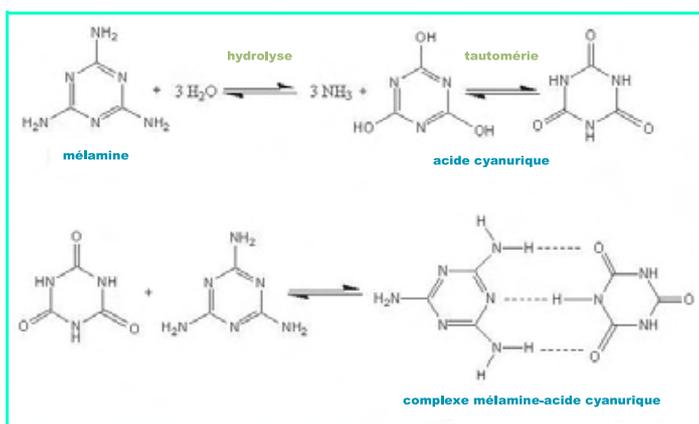
- sa *planéité* : une molécule plane pourrait plus facilement s'insérer au sein des membranes cellulaires ou de l'ADN afin de perturber leur fonctionnement ;
- son *cycle aromatique* : la grande densité d'électrons – délocalisés – au sein de la mélamine la rend très réactive par rapport aux phénomènes d'oxydoréduction. On peut aussi observer une fixation au niveau des poches des protéines riches en noyaux aromatiques ;
- ses *fonctions amine* : les amines interagissent facilement avec les fonctions carbonyles, acides et amides des molécules présentes dans le corps humain à l'état naturel ou non. En particulier, en présence d'acide cyanurique, on observe la formation d'un complexe cristallin très peu soluble dans l'eau (voir figure), responsable des insuffisances rénales – calculs – et urinaires observées. L'acide cyanurique – produit d'hydrolyse de la mélamine – est souvent présent avec la mélamine elle-même, mais est également utilisé dans le traitement de l'eau par exemple ; l'acide cyanurique peut s'accumuler dans le corps, notamment au niveau des reins<sup>(2)</sup>.

### Fraude à la mélamine

Lorsqu'un lait est insuffisamment riche en protéines, à la suite par exemple d'une dilution avec l'eau afin d'accroître

son volume, l'ajout de mélamine permet de donner l'illusion d'une présence élevée en protéines lors des analyses en laboratoire. En effet, les méthodes analytiques employées mesurent le taux d'azote contenu dans l'échantillon afin de le relier au taux de protéines. On se rend alors compte que l'ajout d'un composé aussi riche en azote – 66 % en masse – permet de frauder ces analyses facilement et à moindre coût.

De plus, la mélamine utilisée n'est certainement pas pure (car trop chère) et contient donc les résidus d'hydrolyse dont l'acide cyanurique (voir figure). Le scandale du lait frelaté chinois pour bébés, révélé fin 2008, tuant officiellement quatre nourrissons et en envoyant des milliers d'autres à l'hôpital, nous a malheureusement montré les dommages provoqués par cette association<sup>(3)</sup>.



Hydrolyse de la mélamine en acide cyanurique puis formation du complexe mélamine-acide cyanurique stabilisé par liaison hydrogène.

- (1) La *toxicité létale* est valeur par l'indicateur DL50 qui représente la masse de substance nécessaire (= dose létale) pour tuer 50 % d'une population animale après ingestion. Elle s'exprime en mg de substance active par kg d'animal. Chez le rat, le DL50 de la mélamine est de l'ordre de 3 000 mg/kg.
- (2) Le chlore est parfois utilisé pour purifier l'eau non potable, mais aussi pour traiter les eaux de piscine. L'acide cyanurique joue alors le rôle de stabilisant du chlore face aux UV afin de réduire leur effet destructeur sur le chlore. Qui n'a jamais bu la tasse ?
- (3) Voir aussi à ce sujet l'article de Viviane Thivent sur le site de la Cité des Sciences et de l'Industrie, [www.cite-sciences.fr/francais/ala\\_cite/science\\_actualites/sitesactu/question\\_actu.php?langue=fr&id\\_article=10643](http://www.cite-sciences.fr/francais/ala_cite/science_actualites/sitesactu/question_actu.php?langue=fr&id_article=10643)



#### Nicolas Lévy\*

est professeur agrégé, responsable du site ENS-DGESCO *CultureSciences-Chimie*, conçu pour assurer une formation scientifique de haut niveau, accessible à tout utilisateur, en particulier aux enseignants.

\* Courriel : [nicolas.levy@ens.fr](mailto:nicolas.levy@ens.fr)  
<http://culturesciences.chimie.ens.fr>

### Palmarès 2009 du prix Roberval

Le prix Roberval est le seul prix international qui récompense des œuvres à contenu scientifique et technologique. Parmi les 115 œuvres sélectionnées, en provenance de vingt pays, seules vingt cinq ont été nominées, parmi lesquelles nous avons retenu :

- Le lauréat : *La physique par les objets quotidiens*, par C. Ray et J.-C. Poizat (Belin), et *L'hydrogène, énergie du futur ?*, par T. Alleau (EDP Sciences), *Le tour du monde des énergies*, par B. Antoine et E. Renaud (J.-C. Lattès), dans la catégorie Grand public.

- *Incendies et explosions d'atmosphère* (mention spéciale), par J.-C. Martin (Presses polytechniques et universitaires romandes), *Mécanique non linéaire des solides déformables*, par A. Ibrahimbegovic (Hermès Science Publications), *La pile à combustible*, par M. Boudellal (Dunod), *Les nanosciences : nanobiotechnologies et nanobiologie*, par M. Lahmani, P. Boisseau et P. Houdy (Belin), dans la catégorie Enseignement supérieur.

- *Le pétrole est partout !*, par A. Dufeu, F. Coste, L. Goyèques et N. Sarton (Link Production, magazine E=M6) dans la catégorie Télévision.

- *Le Dictionnaire interactif des sciences et techniques*, de J. Robert (Sciences & Co – Éditions de l'Analogie) dans la catégorie Multimédias.

• Pour la 23<sup>e</sup> édition, soyez candidat en vous inscrivant **jusqu'à fin mai** sur <http://prixroberval.utc.fr/etre-candidat.html>

### Livres



#### Counterterrorist detection techniques of explosives

J. Yinon (ed)  
439 p., 82,95 €  
Elsevier, 2007

Si des actes de terrorisme ont été commis de tous temps, les événements dramatiques de ces dernières années, tels que l'attaque des tours jumelles de New York en 2001, l'attentat de Bali en 2002, l'explosion des trains de Madrid en 2004, du métro de Londres en 2005, et malheureusement bien d'autres, ont fait prendre conscience de nouvelles menaces et suscité des efforts accrus pour tenter de les prévenir. Les

méthodes modernes d'analyse physico-chimique sont aujourd'hui largement sollicitées afin de prévenir au mieux les risques d'attentats et détecter préventivement les substances explosives généralement bien dissimulées. L'objet de cet ouvrage est de présenter un panorama des méthodes actuellement disponibles ou susceptibles d'être améliorées.

Son coordinateur est un expert mondialement reconnu des méthodes d'analyse des substances explosives. Outre de nombreuses publications, il a déjà édité neuf ouvrages sur le sujet, notamment *Forensic and Environmental Detection of Explosives* (Wiley, 1999). L'actualité ainsi que l'évolution des techniques instrumentales rendaient nécessaire sa profonde mise à jour, et ce dernier ouvrage atteint parfaitement cet objectif.

Le livre comporte treize chapitres indépendants, de longueurs égales, dont un rédigé par M. Yinon sur la spectrométrie de masse, et les autres par un collège d'experts. Ces chapitres recouvrent les trois principales approches pour la détection des substances explosives.

Les méthodes spécifiques visent l'analyse de vapeurs ou de résidus qui résultent de l'évaporation des substances recherchées, ou de minuscules débris solides pouvant se trouver à la surface externe de la bombe qui les contient. Ces méthodes incluent la chimiluminescence, la spectrométrie de masse, la mesure de mobilité ionique à pression atmosphérique, les détecteurs biologiques que sont les chiens ou certains insectes, les micro-capteurs spécifiques tels les capteurs électrochimiques, les microsystèmes électromécaniques ou les micro-balances à quartz.

Au contraire, les méthodes globales recherchent l'ensemble de l'explosif au moyen de l'absorption d'une radiation particulière et peuvent en donner une image. Ce sont par exemple les rayons X, les rayons laser, les ondes radiométriques, les très hautes fréquences dites « teraHertz » ( $10^{11}$ - $10^{13}$  Hz), particulièrement intéressantes car bien qu'inoffensives pour l'humain, elles peuvent pénétrer les vêtements, les bagages, etc. tout en procurant des spectres d'absorption caractéristiques pour les substances explosives. La résonance magnétique quadripolaire nucléaire de  $^{14}\text{N}$  est intéressante pour la détection des explosifs nitrés. Les techniques nucléaires mettant en œuvre l'utilisation de neutrons offrent un potentiel intéressant en raison de

leur fort pouvoir de pénétration mais sont difficiles à intégrer dans des systèmes facilement transportables.

Ces deux approches sont combinables en une troisième catégorie de systèmes d'analyse permettant de concevoir des portails de détection, tels ceux présents dans les aéroports et les bâtiments publics sensibles.

Le livre, bien rédigé et agréable à lire, est abondamment illustré de nombreuses photographies de systèmes de détection ou d'exemples de résultats. C'est un ouvrage de référence, recommandé à tous les laboratoires de criminalistique et aux personnels impliqués dans la détection d'explosifs cachés.

Patrick Arpino



#### Caractérisation expérimentale des matériaux

I – Propriétés physiques, thermiques et mécaniques  
**Traité des matériaux, vol. 2**

S. Degallaix, B. Ilschner (coord)  
402 p., 69,60 €

Presses polytechniques et universitaires romandes, 2007

Le *Traité des matériaux* est une œuvre ambitieuse entreprise par le regretté Bernhard Ilschner. Il a voulu une collection complète et cohérente de vingt ouvrages en français sur la science des matériaux, utile à la fois au chercheur et à l'ingénieur, qui constituerait en même temps un outil pédagogique destiné aux enseignants et aux étudiants. Bien qu'il ait appris le français après l'âge de 50 ans, cette initiative montre à quel point il tenait à s'intégrer à la communauté scientifique des matériaux francophone et à la rassembler autour d'un ouvrage monumental qui n'a pas de vrai précédent. Pari réussi après plus de vingt ans de travail pour les nombreux auteurs qu'il a su entraîner avec lui.

Cet ouvrage, rédigé en co-direction entre Suzanne Degallaix et Bernhard Ilschner, est l'un des derniers à paraître des vingt tomes de la collection. Le sujet abordé constitue une base essentielle de la connaissance des matériaux puisqu'il s'agit de déterminer leurs propriétés et leur comportement à l'usage pour en optimiser l'emploi. On ne s'étonnera

donc pas d'y trouver, outre les principales méthodes d'analyse chimique, l'ensemble des techniques d'investigation et de caractérisation de la structure, notamment par microscopie optique et analyse d'images, et également de détermination des propriétés mécaniques, physiques et thermiques. Il s'agit là du socle des connaissances nécessaires à tout ingénieur ou chercheur ayant l'ambition de choisir et de mettre en œuvre les matériaux aux fins de répondre au cahier des charges d'ensembles techniques sûrs, performants et de coût maîtrisé. La grande variété des essais non destructifs est décrite avec le souci d'apporter les éléments nécessaires à leur mise en œuvre au laboratoire et jusqu'à l'atelier, dans les meilleures conditions de représentativité des observations et des mesures. Chacun des quatorze auteurs traite son sujet avec clarté et exhaustivité en indiquant d'abord les objectifs des méthodes décrites, en apportant les bases physiques et théoriques utiles à la compréhension des phénomènes, et en terminant par un résumé permettant une bonne synthèse et aussi une information suffisante pour la culture générale du lecteur pressé. Les données nécessaires à l'application pratique des méthodes et techniques décrites sont clairement indiquées au profit de l'expérimentateur. Si l'ouvrage est surtout orienté vers les matériaux métalliques, souvent à l'origine de la plupart des méthodes considérées, leur extension aux polymères et aux céramiques n'est pas oubliée, faisant de cet ouvrage un outil très utile pour quiconque s'intéresse aux matériaux de structure. Il est lisible par le non-spécialiste ayant les bases scientifiques générales requises et constitue une excellente introduction pour aborder les ouvrages spécialisés, mais plus pointus et de lecture plus lourde, qui existent sur la plupart des thèmes de l'ouvrage.

Gérard Beck



### Chimie : préparation au bac et à la maturité

M. Rebstein, C. Soerensen

350 p., 39,50 €

Presses polytechniques et universitaires romandes, 2007

Les auteurs se proposent l'objectif ambitieux de faire une présentation quasiment *ex nihilo* de la chimie, sans dépasser le niveau de la fin des études secondaires. Objectif atteint, avec un livre de lecture et de présentation agréable, très bien illustré, aux schémas explicatifs clairs : la chimie apparaît concrète, vivante et source de culture ; les concepts sont toujours enracinés dans l'histoire des idées et on découvre avec plaisir l'étymologie de mots tels que stœchiométrie, allotropie, diamant et bien d'autres.

Le premier chapitre décrit la matière macroscopique et les techniques de la chimie. Les suivants étudient la structure atomique et moléculaire de la matière, en rappelant utilement l'origine expérimentale des concepts, sans oublier les illustrations concrètes. Le lecteur voit ainsi se construire progressivement les objets de la chimie, de la molécule aux cristaux. Après un chapitre de nomenclature inorganique, quatre chapitres abordent des aspects quantitatifs, avec l'étude de la réaction chimique et de la thermochimie. Un chapitre introduit la notion d'équilibre dynamique avec la réaction de synthèse de HI. L'exemple est bien discuté, mais la généralisation à l'ensemble des équilibres chimiques paraît dangereuse car elle peut induire des confusions.

On trouve ensuite l'étude de l'acidobasicité, de l'oxydoréduction, et une ouverture sur les questions d'actualité avec un chapitre sur la chimie atmosphérique. Enfin est présentée la chimie organique, de façon très succincte mais assez plaisante, une fois dépassée la nomenclature.

Quel est le public visé par ce livre, outre les étudiants suisses ? Tous les étudiants qui ont des lacunes à combler en sciences de la matière y trouveront une approche systématique et simple, et une construction cohérente de la chimie qui leur évitera une dispersion stérile. Les professeurs de lycée y rencontreront un regard différent de celui des ouvrages scolaires à la française et un souci d'enracinement historique et culturel des sciences. Les travaux pratiques proposés seront aussi une ressource pour l'élaboration de séquences d'enseignement. Enfin, ce livre sera utile aux candidats aux concours de recrutement de professeurs. Toutefois, les chapitres quantitatifs doivent être lus avec du recul, d'autant plus que les programmes actuels en vigueur en France (dont le fil directeur est la réaction chimique) sont marqués par une codification du langage très (trop ?) rigoureuse. Les auteurs de ce livre ont un langage « spontané », très vivant, mais parfois flou, bien éloigné des rigueurs exigées des candidats enseignants français.

Il ne faudrait pas que ces réserves soient mal interprétées : ce livre est une très belle introduction à l'étude de la chimie, aussi bien dans la forme que dans le fond.

Michèle Gouédard

### Chimie inorganique, Exercices corrigés

1<sup>ère</sup> année PCSI

N. Higonet

269 p., 21,50 €

Ellipses, 2005

### Chimie

Fiches, méthodes

et exercices corrigés

1<sup>ère</sup> année MPSI – PTSI – TSI

S. Devillard

448 p., 35 €

Ellipses, 2005

**Ndlr** : L'analyse de ces deux ouvrages, effectuée par Katia Fajerweg (division Enseignement-Formation de la SCF), est publiée sur notre site Internet, page liée au sommaire du numéro de mai, rubrique Livres et médias.

### Bulletin de l'Union des professeurs de physique et de chimie (le « Bup »)

La rédaction de L'Actualité Chimique a sélectionné pour vous quelques articles.



#### N° 911 (2) (février 2009)

- Corrigés des concours 2008 : Agrégation et CAPES de sciences physiques (concours externe et interne).

#### N° 912 (mars 2009)

- La foudre en bouteille, par J.-L. Brisset.

- Prix Nobel de chimie 2008, par A. Mathis.

- Quinine : extraction, caractérisation, utilisation, par F. Laibe-Darbour, C. Aronica.

#### N° 913 (avril 2009)

- Dosage d'un conservateur par spectrophotométrie UV-visible, par H. Monin-Soyer, J. Jezequel.

#### N° 914 (mai 2009)

- Les XXV<sup>e</sup> Olympiades nationales de la chimie, par M. Izbicki, M. Schwob.

• Sommaires complets, résumés des articles et modalités d'achat sur <http://www.udppc.asso.fr>

# Optimisation et sélection dans le processus de découverte des médicaments

Retour sur les 43<sup>e</sup> Rencontres internationales de chimie thérapeutique (Lille, 4-6 juillet 2007)

Terence Beghyn, Nicolas Willand, Rebecca Deprez-Poulain et Yves Rolland

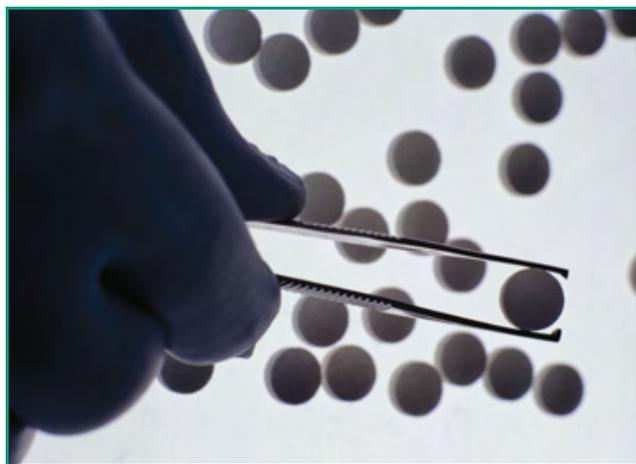
**Résumé** Les 43<sup>e</sup> Rencontres internationales de chimie thérapeutique (RICT43) se sont tenues en juillet 2007 à Lille. La thématique choisie, « Drug discovery and selection », a permis d'illustrer trois des évolutions majeures qu'a connu le processus de découverte de médicaments : la validation de cibles thérapeutiques et la polypharmacologie, l'utilisation de nouvelles technologies sur lesquelles se basent les premières phases du processus de découverte, et l'optimisation multiparamétrique lors de la phase de « hit to lead ». Afin d'illustrer ces thématiques, une majorité d'études de cas ont proposé des solutions pratiques à ces différents problèmes.

**Mots-clés** Chimie thérapeutique, médicaments, nouveaux développements, polypharmacologie, criblage, synthèse, optimisation.

**Abstract** **Drug discovery and selection. Flash-back on the 43<sup>rd</sup> International conference on medicinal chemistry (Lille, France, July 4-7, 2007)**

Jointly organized by the French Société de Chimie Thérapeutique (SCT), the Royal Society of Chemistry (RSC, UK), the Société Royale de Chimie (SRC, Belgium) and the Koninklijke Vlaamse Chemische Vereniging (KVCV, Belgium), the 43<sup>rd</sup> International conference on medicinal chemistry (RICT43) took place on July 2007 at the School of Pharmacy in Lille (France). On the theme « Drug discovery and selection », the three following major evolutions of the process of drug discovery were illustrated and discussed: the link between physiopathological hypotheses and molecular targets identified through human genome sequencing and the concept of "polypharmacology", the wide range of technologies from screening to new synthetic procedures, and the requirement for a multiparametric optimization even in the very early phases of discovery.

**Keywords** Medicinal chemistry, drugs, polypharmacology, screening, synthesis, optimization.



Organisées pour la première fois conjointement par la Société de Chimie Thérapeutique (SCT), la Royal Society of Chemistry (RSC, R.-U.), la Société Royale de Chimie (Belgique) et la Koninklijke Vlaamse Chemische Vereniging (Belgique), les 43<sup>e</sup> Rencontres internationales de chimie thérapeutique (RICT43) se sont tenues en juillet 2007 à la Faculté de Pharmacie de Lille. Soutenues par l'Inserm, le CNRS et différents sponsors institutionnels et industriels, elles ont réuni des chercheurs venus du monde académique (près de 30 %) comme du monde industriel (plus de 50 %).

La France, l'Angleterre et la Belgique étaient les trois pays les plus représentés, mais des participants de vingt pays – plus particulièrement la Suisse, l'Allemagne, l'Italie et l'Espagne, sans oublier les États-Unis, le Canada et différents pays d'Asie – ont également contribué au succès de cette manifestation. Les étudiants, qui représentaient près de 20 % de l'auditoire, ont activement participé à la session « carrière », qui a permis à plusieurs d'entre eux de trouver un emploi.

À cette occasion, Jean-Pierre Maffrand, directeur de la recherche amont du groupe Sanofi-Aventis, s'est vu remettre le prix Paul Ehrlich pour l'ensemble de son travail qu'il a brillamment illustré lors de sa conférence intitulée « Medicinal chemistry: a support to chemical biology and a necessity for drug discovery ».

Les vingt-neuf conférenciers, dont une majorité d'industriels, ont abordé trois des évolutions majeures qu'a connues le processus de découverte de médicaments ces dernières années :

- **La validation de cibles thérapeutiques et la polypharmacologie** (capacité d'une molécule à interagir avec plusieurs cibles biologiques), sachant que la possibilité d'associer des hypothèses physiopathologiques puis thérapeutiques aux cibles moléculaires issues du séquençage du génome humain s'est avérée beaucoup plus complexe que prévu. Avec la notion de polypharmacologie évoquée à plusieurs reprises, de nouvelles opportunités

s'offrent aux chimistes, ouvrant la voie à une approche « chémocentrique » (basée sur une structure chimique) de l'exploration des génomes.

- **L'élargissement de l'éventail des technologies** sur lesquelles se basent les premières phases du processus de découverte : méthodes de criblage innovantes, méthodes de synthèse ouvrant la voie à l'exploration de pharmacophores originaux, conception rationnelle de chimiothèques (chémodiversité), découverte des premières molécules actives (les « hits »)...

- L'introduction, dès les toutes premières étapes du processus de découverte (phase de « hit to lead<sup>(1)</sup> »), d'une **optimisation multiparamétrique** est désormais systématique. Ainsi, autant que l'activité intrinsèque, une prise en compte très précoce d'éléments tels que le métabolisme, la pharmacocinétique, la toxicité ou les caractéristiques physico-chimiques des molécules, permettra de diminuer les risques d'échecs au cours des essais cliniques (risques qui restent extrêmement élevés, actuellement moins d'une molécule sur dix entrant en essais cliniques arrive sur le marché).

### La polypharmacologie : vers une approche « chémocentrique » du génome

Lors de sa conférence, Andrew Hopkins (Pfizer Global R & D, R.-U.) a développé la notion de polypharmacologie. Elle est issue de la constatation qu'en confrontant un ligand (molécule organique de bas poids moléculaire) à une diversité croissante de cibles biologiques, il est courant de découvrir que ce ligand agit également sur des cibles dénuées de lien apparent avec son activité connue. Si cette approche permet d'envisager la conception de médicaments agissant de manière synergique sur plusieurs cibles pharmacologiques différentes, elle débouche aussi sur une notion fondamentale d'un intérêt considérable pour les chimistes médicaux. En effet, jusqu'à présent, les séquences issues du génome sont classées par homologie en grandes familles de cibles thérapeutiques potentielles (protéases, récepteurs couplés aux protéines G, kinases...). L'approche « chémocentrique » propose de ne plus uniquement comparer les protéines entre elles sur la base de leurs séquences nucléotidiques codantes, mais de les classer en se fondant sur les similarités structurales de leurs ligands chimiques (d'où le préfixe *chémo*). Les résultats sont éloquentes : parmi les ligands « polypharmacologiques », plus de 25 % se lie à des cibles appartenant à des familles protéiques différentes structurellement et/ou fonctionnellement (par exemple, une kinase et une protéase). Avec cette nouvelle approche, la principale difficulté selon A. Hopkins est d'ordre méthodologique : en effet, si les bases de données génomiques sont parfaitement codifiées, il n'en est pas de même des données associant les structures chimiques des ligands et les cibles biologiques. La plupart de ces informations se trouvent sous des formes qui ne permettent pas le « datamining » automatique. Un effort de la communauté des chimistes devrait permettre de standardiser ces informations et de générer une image du génome humain dans laquelle les protéines seraient classées sur la base de la proximité structurale de leurs ligands plutôt que sur celle de l'homologie de leurs séquences protéiques et/ou nucléotidiques.

Ces notions ont également été évoquées par Jonathan Mason (Lunbeck Research, Danemark), qui a mis en

évidence l'utilité des ligands « polypharmacologiques » et la nécessité de trouver des descripteurs adaptés. Son équipe développe de nombreux outils pour représenter les ligands dans l'espace biologique et les cibles biologiques dans l'espace chimique. Ainsi le lien est fait entre deux cibles biologiques, non pas par une analogie de séquences ou de structures, mais par leurs ligands appartenant à la même famille structurale. Avec ces méthodes, J. Mason a montré que trois récepteurs – D1, 5HT<sub>7</sub> et alpha1 – constituaient des cibles très proches dans un espace chémogénomique.

### Le criblage : tests et chimiothèques

Petra Blom (Devgen, Belgique) a décrit une approche très originale pour découvrir des bloqueurs de canaux ioniques par criblage. Elle repose sur l'utilisation d'un ver microscopique, *C. elegans*, génétiquement modifié de manière à ce que sa capacité à ingérer des nutriments devienne dépendante de l'expression d'un canal ionique humain. Un précurseur fluorescent ajouté au milieu de culture devient fluorescent après son ingestion. L'absence de fluorescence indique l'inhibition du fonctionnement du canal ionique par des composés chimiques préalablement ajoutés au milieu de culture. Des 40 000 composés évalués selon ce test, quatre séries pharmacochimiques d'intérêt ont pu être identifiées.

Le soin apporté actuellement à la constitution de chimiothèques destinées au criblage à haut débit et à la découverte de hits a parfaitement été illustré par Jeff Stonehouse (Lead Generation, AstraZeneca R & D, R.-U.). L'accent est mis sur trois paramètres : la **qualité** de chaque échantillon (diversité introduite par chaque synthon de base et pureté, fortement dépendante des conditions réactionnelles), l'**originalité** (de structure chimique, d'approche méthodologique dans la synthèse...), et enfin la **quantité** (nombre et stock disponible des échantillons). L'attention portée à l'originalité de la voie de synthèse diminue les risques de suivre les mêmes pistes que les équipes concurrentes, risques que le recours à des chimiothèques commerciales augmente considérablement. Parmi les voies d'accès nouvelles à des scaffolds<sup>(2)</sup> originaux, on retiendra par exemple la synthèse de dérivés spiraniques de motif 2,6-diaza-spiro[3.3]heptane à partir d'un précurseur commun, l'ester éthylique de l'acide 1-benzyl-3-chlorométhyl-azetidone-3-carboxylique (figure 1).

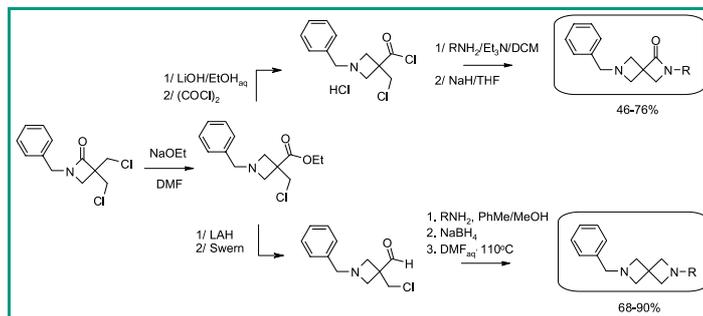


Figure 1 - Synthèse de dérivés spiraniques de motif 2,6-diaza-spiro[3.3]heptane.

### Approches innovantes en synthèse

Trevor J. Grinter (Glaxo SmithKline, R.-U.) a illustré une approche de chimie verte pour la synthèse à l'échelle du kilogramme de la radafaxine, un inhibiteur de la recapture de la dopamine et de la noradrénaline. Le procédé synthétique initial présentait deux inconvénients : le coût excessif des

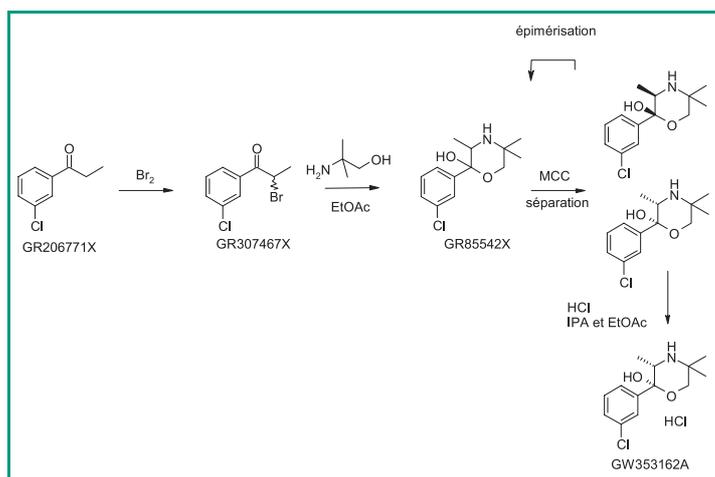


Figure 2 - Procédé de synthèse industrielle de la radafaxine.

matières premières et surtout celui du retraitement des déchets (solvants et réactifs). Le procédé finalement adopté est moins onéreux et ne met plus en jeu qu'un seul solvant, l'acétate d'éthyle, et un nombre nettement plus faible de lavages aqueux (figure 2). La résolution des deux énantiomères sur colonne chirale selon le principe de la chromatographie multicolonne s'est révélée plus appropriée que l'utilisation de sels chiraux. Cette approche a permis d'accroître le rendement synthétique et énergétique en favorisant le recyclage plutôt que l'élimination des déchets.

Janine Cossy (ESPCI, Paris) a présenté un inventaire des différentes réactions métallocatalysées appliquées au contrôle de centres asymétriques dans l'approche synthétique de deux produits naturels de structure complexe ayant montré des activités antitumorales (herbimycine A et migrastatine, figure 3). Un élément clé de ses travaux est

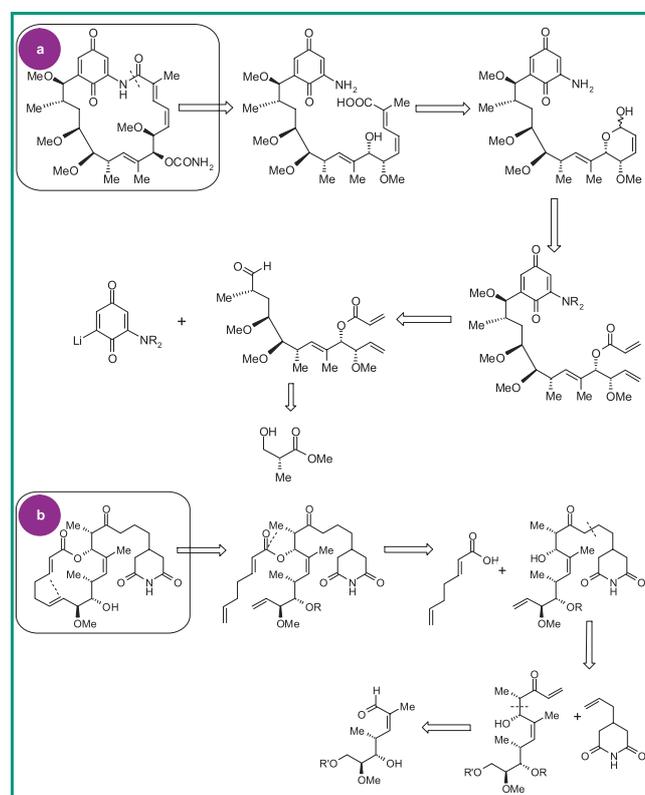


Figure 3 - Schémas rétrosynthétiques décrits pour l'herbimycine A (a) et la migrastatine (b).

l'utilisation de la réaction de métathèse pour préparer des synthons stratégiques, mais également pour la cyclisation des macromolécules en fin de synthèse.

## Le « hit to lead » : l'avènement de l'optimisation multiparamétrique

Marc Bertrand (BioPharmacie, Servier, France) a illustré les différents outils développés au sein de son groupe pour aider les chimistes à concevoir des molécules « drug-like<sup>(3)</sup> ». Il a montré en particulier comment l'utilisation de bactosomes<sup>(4)</sup> pour exprimer individuellement les isoformes<sup>(5)</sup> de cytochromes P450, principales enzymes responsables du métabolisme des médicaments, permettait de mieux prévoir les possibles interactions médicamenteuses. Il a terminé sa conférence en montrant comment les outils de chémoinformatique vont permettre l'analyse des quantités considérables de données de relations structure/propriétés générées depuis une dizaine d'années par de telles études réalisées de manière systématique.

Yue-Zhong Shu (Bristol-Myers Squibb, E.-U.) a montré que dans plus de 20 % des cas, les effets de toxicité observés (données internes BMS) n'étaient pas liés aux produits eux-mêmes mais à leur transformation en espèces chimiquement réactives au cours de leur métabolisme dans l'organisme. Ces métabolites réactifs se lient ensuite de manière covalente soit à l'ADN, engendrant une génotoxicité, soit aux protéines, induisant des phénomènes d'immunotoxicité. Certaines de ces réactions sont caractéristiques de chémotypes bien connus des chimistes médicaux (accepteurs de Michael, époxyde d'arènes...) dont la réactivité est mise en évidence par des tests tels que la conjugaison à des groupements thiols (glutathion...). D'autres réactions, comme la formation de glucuronides réactifs, sont plus difficilement identifiées. Par contre, un nombre croissant de mécanismes d'activation métabolique « non classiques » sont actuellement mis en évidence, et tout particulièrement avec des molécules présentant des structures hétérocycliques. Pour mieux maîtriser ce problème, BMS a mis en place un outil chémoinformatique, « Metabolite Profiler », capable de prévoir les voies métaboliques principales d'un produit.

Un autre aspect évoqué par Y.-Z. Shu est la formation de métabolites possédant une activité pharmacologique dont l'effet peut venir s'ajouter à celui de la molécule initiale. Ici encore, des outils d'évaluation systématique de la formation de tels métabolites ont été mis en place.

Lors de sa conférence, Gabriele Cruciani (Università di Perugia, Italie) a présenté un outil informatique permettant l'évaluation de la stabilité métabolique en se basant sur une analyse structurale et chimique des cytochromes P450, enzymes impliquées dans l'oxydation des xénobiotiques. Un message important fut que la modification d'un substrat de cytochrome dans une position lointaine d'un site d'oxydation, permet de protéger ce site de métabolisation par altération de la reconnaissance du substrat par l'enzyme.

La prédiction d'une éventuelle cardiotoxicité de candidats médicaments a été illustrée par Luca Fenu (Johnson & Johnson, Belgique), qui a décrit les modèles expérimentaux utilisés chez J & J. Il s'agit notamment de tests d'affinité pour différents canaux ioniques ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  et hERG<sup>(6)</sup>), de tests de patch clamp<sup>(7)</sup> ou d'essais sur organes isolés.

Petra Blom (Devgen, Belgique) a illustré les difficultés rencontrées lors de l'optimisation des premières têtes de série obtenues à l'issue du criblage quand il faut tout à la fois

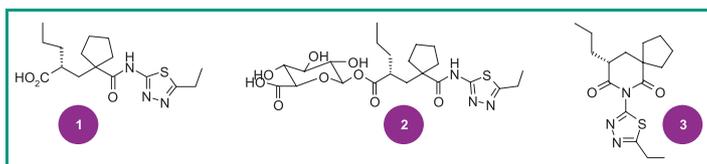


Figure 4 - Formation de glucuronide instable à l'origine d'une pipéridine-dione réactive.

augmenter l'activité, et améliorer la stabilité métabolique ainsi que la solubilité. Dans son cas, compte tenu de l'environnement hydrophobe au sein du canal ionique, toute tentative pour augmenter l'hydrophilie des molécules s'accompagnait inévitablement d'une perte d'activité. La solution a été trouvée en intervenant au niveau de la stabilité du réseau cristallin : la N-alkylation d'une fonction amide a ainsi permis, en diminuant le nombre de liaisons hydrogène, de diminuer l'énergie du réseau et d'aboutir à une augmentation spectaculaire de la solubilité.

Lors de sa présentation consacrée à la découverte d'un inhibiteur d'une endopeptidase neutre, la NEP, David Pryde (Pfizer Global R & D, R.-U.) a parfaitement illustré un cas où la principale difficulté n'avait pas été seulement d'obtenir des composés actifs, mais où il avait également fallu résoudre un problème de toxicité lié à une voie métabolique. Lors des études précliniques du composé 1 (figure 4) chez le chien, une toxicité intestinale avait été observée et initialement attribuée à la formation du glucuronide 2 au niveau de la fonction acide carboxylique. Une étude plus poussée a montré que ce glucuronide n'était pas stable et qu'il se transformait spontanément pour conduire au dérivé cyclique 3. Ce dernier réagit alors sur différents nucléophiles présents à la surface des protéines pour former des conjugués immunogènes responsables de la toxicité. Une étude de la stabilité des glucuronides formés par une série d'analogues de 1 a permis d'identifier le composé 4 (figure 5) dont le glucuronide conduit également à un composé cyclique 5, mais à la différence de 3, le composé 5 est stable et ne réagit plus avec les nucléophiles.

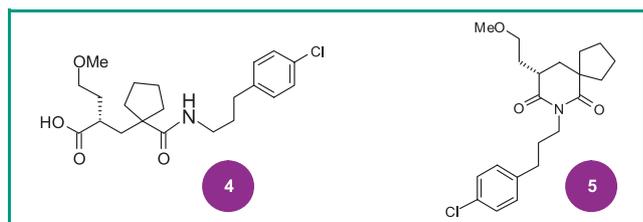


Figure 5 - Pipéridine-dione non réactive issue d'un dérivé glucuronylé instable.

L'optimisation multidimensionnelle requiert d'avoir accès à des tests rapides et d'interprétation facile, de manière à pouvoir évaluer très rapidement au cours des phases de « hit to lead » des propriétés telles que la stabilité métabolique, la solubilité, la toxicité et la capacité à franchir les membranes biologiques.

### « Breaking the rules in discovery »

Plusieurs conférences plénières ont été dédiées à des études de cas, illustrant souvent à quel point la découverte d'un médicament peut s'éloigner des approches décrites classiquement.

Juan Luengo (GlaxoSmithKline, E.-U.) a probablement présenté le cas le plus atypique avec la découverte de l'eltrombopag (figure 6), un agoniste du récepteur de la thrombopoïétine, cible particulièrement problématique puisqu'il faut mimer l'effet d'une cytokine constituée de 352 acides aminés. Le criblage initial, de type fonctionnel, a permis d'identifier deux familles de hits particulièrement peu « attractifs » et en particulier le composé 6 (figure 6) qui risque, par réduction de la fonction diazo par la flore intestinale, d'engendrer un aminonaphtol carcinogène. Le remplacement de cette fonction par une pyrazolinone favorisant le tautomère  $\alpha$ -cétohydrazone résistant à une telle réduction, a permis d'apporter une solution à ce problème et a abouti à la découverte de l'eltrombopag. Une autre difficulté aurait pu mettre un terme à ce projet : aucun modèle animal n'était disponible, les composés n'étant actifs que sur le récepteur humain. L'eltrombopag a montré une excellente efficacité lors d'essais cliniques de phase II, et il serait susceptible d'être le premier médicament capable, après administration par voie orale, d'augmenter le nombre de plaquettes sanguines.

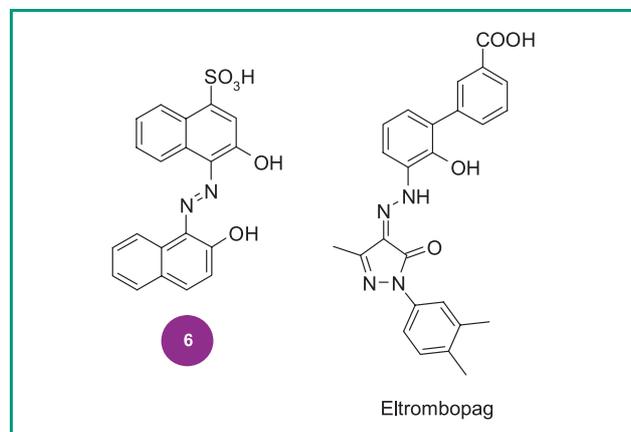


Figure 6.

Dans le domaine des anti-infectieux, Anil Koul (Johnson & Johnson, Belgique) a communiqué les dernières avancées concernant l'identification de la cible de TMC207, un dérivé de la série des diarylquinoléines (figure 7). Les effets de ce composé, identifié lors d'un criblage phénotypique sur des souches résistantes aux autres antituberculeux, ont suggéré une activité sur une cible nouvelle. La découverte d'une mutation au niveau du gène codant pour l'ATP-synthase chez les seules souches de bacilles résistants, a permis de suspecter que cette enzyme constituait la cible moléculaire du TMC207. Après développement de modèles génétiquement modifiés, l'inhibition de la production d'ATP en présence du TMC207 a pu être mesurée au niveau cellulaire et attribuée à l'inhibition de la sous-unité c de l'ATP-synthase. Cette cible a également été « pêchée » par chromatographie d'affinité sur une colonne greffée avec TMC207. Enfin, l'affinité du TMC207 pour la sous-unité c, quantifiée par résonance plasmonique de surface, est supérieure à son affinité pour les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ . Cette étude a validé l'ATP-synthase comme cible des diarylquinoléines,

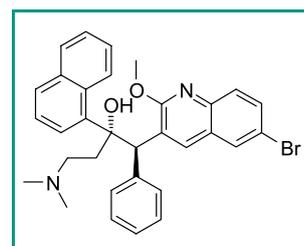


Figure 7 - Le TMC207.

mais également comme nouvelle cible pour le traitement de la tuberculose.

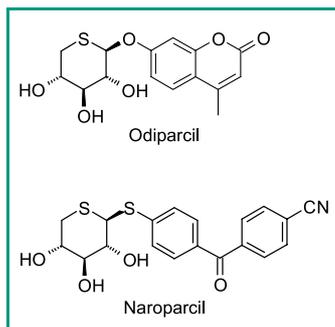


Figure 8.

ont mis l'accent sur la configuration du sucre, les substituants du carbone anomérique, ainsi que la suppression d'une cétone instable. Ces travaux ont conduit à l'optimisation du naroparcil en odiparcil.

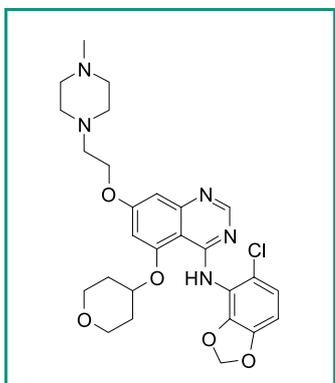


Figure 9 - Le AZD0530.

d'une fonction amine) était responsable de l'affinité pour le canal potassique hERG (impliquant un risque de cardiotoxicité). Par contre, le gain de solubilité associé à la protonation de cette fonction permettait une amélioration de la distribution du produit dans l'organisme. Le meilleur compromis entre cardiotoxicité et pharmacocinétique a été trouvé avec une fonction pipérazine présentant un pKa de 7,9. Le composé final, AZD0530, empêche le développement de métastases dans des modèles de xénogreffes chez la souris et est actuellement en essais cliniques de phase I.

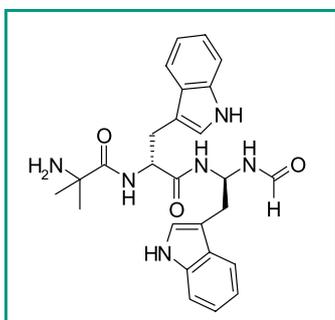


Figure 10 - Le JMV 1843.

en hormone de croissance. Une série de molécules de nature non peptidiques, des analogues de type triazole, tels le JMV 3002, antagoniste compétitif du récepteur h-GHS-R1a, ont été obtenues et pourraient être utilisées dans le traitement de l'obésité.

La découverte et le développement de l'odiparcil (figure 8), un antithrombotique actuellement en essais cliniques, ont été décrits par Véronique Barberousse (Laboratoires Fournier, groupe Solvay, France). Cette molécule est un inducteur de la biosynthèse de glycoaminoglycanes (GAG), substrat de la GT1 humaine ( $\beta$ -1,4-galactosyl transférase). Les relations structure/activités présentées

Laurent Hennequin (Astra-Zeneca, France) a présenté la découverte du AZD0530 (figure 9), premier inhibiteur de la tyrosine kinase Src possédant une activité par voie orale chez l'Homme. La tyrosine kinase Src est une cible permettant le contrôle des métastases en modulant l'expression de l'E-cadhérine. Pendant la phase d'optimisation, L. Hennequin et son équipe se sont aperçus que le caractère basique de la série chimique (liée à la présence

Jean Martinez (Université de Montpellier) a présenté des agonistes et antagonistes du récepteur de la ghréline (h-GHS-R1), hormone qui stimule l'appétit. Un composé de structure peptidique, JMV 1843 (H-Aib-DTrp-DgTrp-For) (figure 10), stimule la sécrétion de l'hormone de croissance (GH : « growth hormone »). Cette molécule est actuellement développée comme outil de diagnostic des déficiences

Claudio Schteingart (Ferring Research Institute, E.-U.) a présenté la découverte et l'optimisation du degarelix. Cet antagoniste de la gonadolibérine (GnRH) est un décapeptide développé pour le traitement du cancer de la prostate. Il possède de bonnes propriétés pharmacocinétiques, contrairement à d'autres peptides sur le marché, en particulier une durée d'action de 41 jours après administration sous-cutanée d'une dose de 2 mg/kg. Ceci est obtenu par un dépôt spontané du produit après injection et lente libération au cours du temps. Le degarelix est aujourd'hui en phase III d'essais cliniques.

Christophe Thurieau (groupe IPSEN, France) a présenté une approche originale dans le traitement de l'acromégalie. Cette maladie est le résultat d'une sécrétion excessive d'hormone de croissance due à 99 % à un adénome bénin de l'hypophyse. Le traitement classique fait appel aux agonistes des récepteurs de la dopamine (comme les dérivés de l'ergot de seigle) et de la somatostatine (comme l'octréotide). Les laboratoires Ipsen ont développé des molécules chimères (agonistes hybrides somatostatine/dopamine) ayant une activité de contrôle de la sécrétion hormonale par les cellules de l'adénome meilleure que l'effet de l'association des molécules individuelles. Une molécule chimère active sur les récepteurs à la somatostatine et à la dopamine, le BIM-23A760 (dopastatine), va entrer en phase clinique.

Enfin, Benoît Kenda (UCB Pharma, Belgique) a exposé la découverte de la cible pharmacologique d'antiépileptiques dérivés du lévétiracétam utilisés depuis longtemps en clinique et une stratégie pour identifier de nouveaux composés plus puissants. La cible du lévétiracétam, SV2A (« synaptic vesicle protein 2A »), est une glycoprotéine membranaire présente dans les vésicules synaptiques, homologue d'un transporteur membranaire bactérien, mais dont la fonction reste encore inconnue. Le brivaracétam, issu d'un travail d'optimisation du lévétiracétam, plus affiné pour SV2A, est aujourd'hui en phase II d'essais cliniques.

## Conclusion

Ces 43<sup>e</sup> Rencontres internationales de chimie thérapeutique ont mis en évidence certaines grandes tendances observées récemment au niveau de la chimie thérapeutique, et qui ont des impacts sur les pratiques quotidiennes des chimistes médicinaux. Ces derniers sont désormais amenés à contribuer au choix, voire à la validation des cibles thérapeutiques, mieux caractérisées au niveau moléculaire. Les chimistes médicinaux peuvent alors intervenir de différentes façons (la « chemical biology ») : synthèses de produits conçus pour être des « palpeurs » au niveau biologique, chémo-informatique (datamining, polypharmacologie...). Par ailleurs, et dans le cadre de la conception et de la synthèse de candidats médicaments – et à côté de l'aspect, essentiel, de l'étude des relations structure/activité –, le chimiste médicinal intègre précocement les problématiques liées à la pharmacocinétique et au métabolisme des produits, à leur toxicité potentielle, ainsi qu'aux possibilités de les formuler (on parlera alors d'études des relations structure/propriétés). Comme il a été montré ci-dessus, les problématiques de synthèse organique restent d'une importance majeure, et notamment pour résoudre certaines questions de chimie industrielle, liées au souci du maintien d'un développement durable.

Dans le prolongement de ce congrès de Lille, et en relation avec les évolutions de fond décrites ici, les organisateurs des 44<sup>e</sup> RICT (Angers, 2-4 juillet 2008) avaient

décidé de les intituler : « *Interfacing chemical biology, natural products and drug discovery* ».

Les prochaines rencontres, **RICT45**, se tiendront **du 1<sup>er</sup> au 3 juillet prochain à Orléans** sur le thème « *Drug discovery and selection* » ([www.medchem.fr](http://www.medchem.fr)).

« Un changement majeur survenu dans le processus de découverte de médicaments au cours des deux dernières décennies est sans conteste l'augmentation exponentielle du nombre de données de toute nature. Le pharmacochimiste, jadis avide des quelques données pharmacologiques disponibles pour ses produits, se trouve maintenant parfois désarmé devant le déluge d'informations que génèrent les techniques de « high throughput ». Même si l'informatique lui est d'une aide précieuse pour le guider tout au long du processus d'optimisation multiparamétrique qui le fera passer du hit au candidat médicament, celle-ci reste encore un art et son apprentissage passe plus que jamais par la confrontation des expériences. En effet, si les « relations structure/activité » restent propres à une cible moléculaire particulière, les « relations structure/propriétés », qu'elles concernent la solubilité, la perméabilité, la liaison aux protéines plasmatiques, le métabolisme ou la toxicité, présentent un caractère générique qui les rend extrapolables d'une série à une autre. Dans cette perspective, la mise en commun des expériences à un stade précompétitif devrait à terme se traduire par une diminution du taux d'attrition au cours des phases précliniques comme cliniques. C'est ce partage d'expérience dans toutes les phases du processus de découverte de médicaments que visent ces 45<sup>e</sup> RICT, placées comme les 43<sup>e</sup> rencontres qui se sont tenues à Lille en 2007, sous la bannière de *Drug discovery and selection*. Le programme comprend différentes conférences portant sur l'imagerie, un aspect particulièrement important dans le processus actuel de *Drug discovery and selection* » [André Tartar (Lille), président de la Société de Chimie Thérapeutique].

### Remerciements

Les auteurs remercient les professeurs André Tartar et Benoît Depez pour leur expertise qui les a aidés à présenter les résultats et avancées scientifiques dévoilés lors de ce congrès.

### Notes

- (1) **Phase de hit-to-lead** : phase d'optimisation des molécules issues d'un premier criblage (hits) de façon à concevoir une tête de série plus active (lead) en établissant des relations structure/activité et structure/sélectivité.
- (2) On qualifie de **scaffold** une structure centrale permettant l'introduction de groupements divers.
- (3) Le terme **drug-like** qualifie une molécule présentant un ensemble de propriétés physico-chimiques retrouvées significativement dans les médicaments. Il peut s'agir par exemple d'un poids moléculaire ne dépassant pas 500 g/mol, ou d'un Log P compris entre 1 et 5, etc.
- (4) **Bactosomes** : système bactérien exprimant des protéines recombinantes.
- (5) Des protéines **isoformes** ont des séquences peptidiques proches et la même fonction biologique.
- (6) **hERG** : canal potassique cardiaque.
- (7) **Patch clamp** : technique de référence pour l'étude électrophysiologique des canaux ioniques qui consiste à enregistrer l'activité électrique d'un fragment microscopique de membrane cellulaire, isolé électriquement du reste de la surface cellulaire et ne contenant que quelques canaux.



T. Beghyn



N. Willand



R. Depez-Poulain



Y. Rolland

**Terence Beghyn** (*auteur correspondant*), **Nicolas Willand** et **Rebecca Depez-Poulain** sont maîtres de conférences à l'unité Inserm-Lille 2 « Biostructures et découverte du médicament »\*. **Yves Rolland**, ancien président de la Société de Chimie Thérapeutique, est directeur de projet à la Direction de la coopération scientifique des Laboratoires Servier\*\*.

\* Biostructures et découverte du médicament, U761 Inserm-Lille 2, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 3 rue du Professeur Laguesse, 59006 Lille.

Courriels : [terence.beghyn@univ-lille2.fr](mailto:terence.beghyn@univ-lille2.fr), [nicolas.willand@univ-lille2.fr](mailto:nicolas.willand@univ-lille2.fr), [rebecca.depez@univ-lille2.fr](mailto:rebecca.depez@univ-lille2.fr)

\*\* Direction de la Coopération scientifique, Laboratoires Servier, 22 rue Garnier, 92578 Neuilly-sur-Seine.



# sanofi aventis

L'essentiel c'est la santé.

16-18 juin 2009

## **Preventica**

Lyon

- <http://www.preventica.com>

21-23 juin 2009

## **COBC 2009**

*German-French-Hungarian congress in organic and biomolecular chemistry*

Budapest (Hongrie)

- <http://www.cobc2009.mke.org.hu>

22-25 juin 2009

## **14<sup>e</sup> Congrès international de métrologie**

Paris

- <http://www.cfmetrologie.com/congres.php>

22-26 juin 2009

## **CIP09**

*17<sup>th</sup> International colloquium on plasma processes*

Marseille

- <http://www.vide.org/cip2009.html>

24-26 juin 2009

## **SIREME 2009**

*Salon international des énergies renouvelables et de la maîtrise de l'énergie*

Paris

- <http://www.sireme.fr>

27 juin-1<sup>er</sup> juillet 2009

## **24<sup>th</sup> ESAT**

*European symposium on applied thermodynamics*

St-Jacques de Compostelle (Espagne)

- <http://www.esat-2009.com>

29 juin-2 juillet 2009

## **MCR 2009**

*International conference on mechanisms of catalytic reactions*

Novosibirsk (Russie)

- <http://www.sbras.nsc.ru/ws/MCRZAM/index.en.html>

29 juin-3 juillet 2009

## **RCCT 2009**

*International conference on chemical thermodynamics*

Kazan (Russie)

- <http://rcct2009.kstu.ru>

1-2 juillet 2009

## **Intermittent energies storage via chemicals**

Le Bourget-du-Lac

- <http://www.ffc-asso.fr/energies-storage>

1-3 juillet 2009

## **Drug discovery and selection 45<sup>e</sup> Rencontres internationales de chimie thérapeutique**

Orléans

- [http://www.ldorganisation.com/produits.php?langue=english&cle\\_menus=1224072132&cle\\_data=1224072205](http://www.ldorganisation.com/produits.php?langue=english&cle_menus=1224072132&cle_data=1224072205)

2 juillet 2009

## **Les composés fluorés par et pour la catalyse Verrous et défis**

Lyon

Journée thématique du Réseau Français du Fluor

- <http://gisfluor.univ-lemans.fr/sommaire.php3>

4-9 juillet 2009

## **34<sup>th</sup> FEBS congress**

*Life's molecular interactions*

Prague (Rép. Tchèque)

- <http://www.febs2009.org>

5-8 juillet 2009

## **Euro Food Chem XV**

*Food for the future*

Copenhague (Danemark)

- <http://www.eurofoodchemxv.life.ku.dk>

5-10 juillet 2009

## **6<sup>th</sup> WCOC**

*World congress on oxidation catalysis*

Lille

“Towards an integrated approach in innovation and development”

- <http://www.6wcoc.org>

6-8 juillet 2009

## **Functional molecules from natural sources**

Oxford (Royaume-Uni)

- <http://www.confsec.co.uk/conferences.htm>

12-16 juillet 2009

## **ESOC 2009**

*16<sup>th</sup> European symposium on organic chemistry*

Prague (Rép. Tchèque)

- <http://www.esoc2009.com>

FFC

12-17 juillet 2009

## **EPF'09**

*European polymer congress*

Graz (Autriche)

- <http://www.epf09.org>

19-24 juillet 2009

## **Eurocarb XV**

*European carbohydrate symposium*

Vienne (Autriche)

- <http://www.eurocarb2009.at>

19-24 juillet 2009

## **ICP 2009**

*International conference on photochemistry*

Tolède (Espagne)

- <http://www.icp09-toledo.com>

19-24 juillet 2009

## **ISNA 13**

*13<sup>th</sup> International symposium on novel aromatic compounds*

Luxembourg

- <http://www.ldorganisation.com>

26-29 juillet 2009

## **Gold 2009**

*5<sup>th</sup> International conference on gold science, technology and its applications*

Heidelberg (Allemagne)

- <http://www.gold2009.org>

27-31 juillet 2009

## **ICCM-17**

*International conference on composite materials*

Édimbourg (Royaume-Uni)

- <http://www.iccm17.org>

23-27 août 2009

## **ASMC 09**

*3<sup>rd</sup> International symposium on advances in synthetic and medicinal chemistry*

Kiev (Ukraine)

- <http://www.ldorganisation.com>

27-29 août 2009

## **SSEBETS 2009**

*7<sup>th</sup> International symposium on speciation of elements in biological, environmental and toxicological sciences*

Eger (Hongrie)

- <http://www.issebets09.mke.org.hu>

Vous trouverez de nombreuses autres manifestations sur le site de la SCF : <http://www.sfc.fr>, rubrique **Manifestations**.

## La SCF a changé son logo



Depuis le 30 mars, la Société Chimique de France s'est dotée d'un nouveau logo qui met plus en avant le mot « chimique ». Le C central joue et fusionne avec les initiales S et F associées en contreforme aux deux cercles, rappelant atomes et molécules. Cette représentation symbolique suggère la transformation, la réaction et dynamise l'ensemble, à l'image de notre association et de ses évolutions !

## La SCF s'implique dans la réforme de l'enseignement

La SCF et plus de trente associations réunissant la plus grande partie des universitaires et enseignants de plusieurs disciplines ont écrit le 6 avril dernier une lettre ouverte au ministre de l'Éducation nationale, pour attirer son attention sur les effets pervers du projet de réforme de formation des maîtres et des concours de recrutement. Cette lettre demande un report de la réforme dans son ensemble pour permettre une remise à plat du dossier et une véritable concertation qui permettra d'assurer aux enseignants de demain une formation digne de ce nom. En outre, la division Enseignement-Formation reste vigilante et s'élèvera contre toute dégradation de l'enseignement des sciences expérimentales, et particulièrement de la chimie, à tout niveau du cursus (lycée, classes préparatoires et formation des maîtres).

- [www.sfc.fr/Documentation/LettreOuvverteDarcos06-04-09.pdf](http://www.sfc.fr/Documentation/LettreOuvverteDarcos06-04-09.pdf)

## Un nouveau cahier de formulation vient de paraître



**Formulation des solides divisés  
Des procédés aux propriétés d'usage**  
L. Metlas-Komunjer (coord.)  
170 p., 34 € (30 € pour les membres de la SCF)  
EDP Sciences, 2009

Ce 14<sup>e</sup> volume fait suite aux 12<sup>e</sup> Journées de formulation, organisées par le groupe Formulation et la Société Française de Génie des Procédés (Compiègne, déc. 2007). Y sont abordées les formulations impliquant nanoparticules, poudres, milieux

granulaires et suspensions, émulsions stabilisées par des particules, avec leurs procédés de préparation, et leurs caractérisations et propriétés d'usage. Ce cahier s'adresse aux étudiants, enseignants, chercheurs et ingénieurs concernés par la formulation et ses applications industrielles.

- À commander à la SCF ou auprès d'EDP Sciences (voir p. 41).  
[adhesion@sfc.fr](mailto:adhesion@sfc.fr) - <http://livres.edpsciences.org>

## Division Enseignement-Formation

### Prix de la division

Le prix de la division 2009 a été attribué à **Micheline Izbicki** et le prix spécial « 25<sup>e</sup> anniversaire des JIREC », qui couronne un engagement particulier dans l'enseignement de la sécurité en chimie, à **Gérard Killé** et **Serge Walter**. Les prix leur seront décernés à Mulhouse lors des prochaines journées de l'innovation et de la recherche dans l'enseignement de la chimie (JIREC).

3-5 juin 2009  
**MIEC-JIREC**  
Mulhouse

Thème : La sécurité au laboratoire de chimie

Les JIREC suivantes se tiendront en mai 2010 à Montpellier, sur le thème de la chimie du nucléaire (énergie, environnement). En 2011, année internationale de la chimie, elles auront lieu en région parisienne.

- <http://www.enscmu.uha.fr/jjirec>

## Club Histoire de la chimie

16-17 juin 2009  
**Journées du club**  
Paris

Thème : Porcelaine, verrerie et émaillerie  
Visite prévue à la Manufacture de Sèvres le mercredi 17 juin.

- [marchandandre@wanadoo.fr](mailto:marchandandre@wanadoo.fr)

18 novembre 2009  
**Journée franco-belge**  
Paris

Les échanges entre chimistes belges et français porteront plus particulièrement sur les chimistes des XIX<sup>e</sup> et XX<sup>e</sup> siècles.

Danielle Fauque attend vos propositions **avant le 30 juin**.

- [danielle.fauque@u-psud.fr](mailto:danielle.fauque@u-psud.fr)

## Calendrier des prochaines manifestations de et avec la SCF

24-29 mai 2009  
**Gecom-Concoord 2009**  
**Chimie de coordination et chimie organométallique**  
Albe

- <http://gecom2009.u-strasbg.fr>

25-28 mai 2009  
**GECat'09**  
**Journées du Groupe d'Étude en Catalyse (GECat) et de la division Catalyse de la SCF**  
Ronce-les-Bains

- <http://www.gecat.fr>

4-5 juin 2009  
**MAOPS 2009**  
**Microwave assisted organic and peptide synthesis**  
La Grande Motte

- <http://maops.ibmm.cnrs.fr/accueil.php>

11 juin 2009  
**Journée de la section régionale Rhône-Alpes**  
Grenoble

- [Serge.Cosnier@ujf-grenoble.fr](mailto:Serge.Cosnier@ujf-grenoble.fr)

14-19 juin 2009  
**Carbon 2009**  
**World conference on carbon**  
Biarritz

- <http://www.gfec.net/spip.php?article35>

18 juin 2009  
**2<sup>e</sup> Colloque du groupe Dégradation et comportement au feu des matériaux organiques**  
Trappes

- <http://matériaux.ardi-rhonealpes.fr>

6-10 juillet 2009  
**14<sup>e</sup> Journées d'électrochimie**  
Sinaia (Roumanie)

- <http://www.JE09.org>

16-21 août 2009  
**60<sup>th</sup> Annual meeting of the International Society of Electrochemistry (ISE)**  
Pékin (Chine)

- <http://event09.ise-online.org>

30 août-4 septembre 2009  
**GECO 50**  
**Groupe d'étude de chimie organique, 50<sup>e</sup> édition**  
Obernai

- <http://www-chimie.u-strasbg.fr/obernai>

## Abonnement 2009 (numéros spéciaux inclus)

Pour l'abonnement électronique, voir tarifs sur le site

Cochez la case qui correspond à l'abonnement auquel vous voulez souscrire :

France	<input type="checkbox"/>	95 €	Particuliers	Étranger	<input type="checkbox"/>	100 €	Particuliers
	<input type="checkbox"/>	110 €	Lycées		<input type="checkbox"/>	130 €	Lycées
	<input type="checkbox"/>	195 €	Institutions		<input type="checkbox"/>	205 €	Institutions

## Complétez votre collection de numéros spéciaux

Les numéros spéciaux sont disponibles en version électronique sur le site à un tarif préférentiel

- Électrochimie & Art, Environnement, Santé, Nanosciences... (février-mars 2009) : 32 €
- Les cosmétiques. La science au service de la beauté (oct.-nov. 2008) : 32 €
- Chimie organique physique. Hommage à Jacques-Émile Dubois (juin-juillet 2008) : 32 €
- Chimie et patrimoine culturel, vol. II (avril 2008) : 24 €
- La photochimie pour transformer la matière (mars 2008) : 24 €
- Chimie et patrimoine culturel, vol. I (oct.-nov. 2007) : 32 €
- La photochimie pour mieux vivre (mai-juin 2007) : 32 €
- Fluor et produits fluorés à l'aube du XXI<sup>e</sup> siècle (oct.-nov. 2006) : 32 €
- Les matériaux carbonés (mars-avril 2006) : 32 €
- Chimie moléculaire et nanosciences (oct.-nov. 2005) : 15 €
- Sciences chimiques et déchets radioactifs (avril-mai 2005) : 15 €
- Le chimiste et le profane. Partager, dialoguer, communiquer, vulgariser, enseigner... (nov.-déc. 2004) : 15 €
- Chimie et environnement (août-sept. 2004) : 15 €
- La chimie dans les sciences médicales (nov.-déc. 2003) : 15 €
- Les isotopes stables (août-sept. 2003) : 15 €
- Quoi de neuf en chimie organique ? (avril-mai 2003) : 15 €
- La chimie des substances renouvelables (nov.-déc. 2002) : format papier épuisé
- La catalyse enzymatique (août-sept. 2002) : 15 €
- Quoi de neuf en catalyse ? (mai-juin 2002) : 15 €
- Les matériaux. Du fondamental aux applications (mars 2002) : 15 €
- L'hydrogène, carburant propre ? Fabrication, stockage, conversion en énergie (décembre 2001) : 15 €
- Magnétisme moléculaire. Un hommage à Olivier Kahn (juin 2001) : 15 €
- La femtochimie (février 2001) : 15 €
- Nourrir les hommes, hier et demain. Apport de la chimie (novembre 2000) : 15 €
- La chimie combinatoire (septembre 2000) : 15 €
- Chimie et vie quotidienne (novembre 1999) : 15 €



## Achat à l'unité (hors numéros spéciaux)

11 € pour les numéros avant 2006 ; 20 € à partir de 2006

(à partir de 2005, ces numéros sont également disponibles en version électronique sur le site)

Les sommaires de tous les numéros peuvent être consultés sur notre site <http://www.lactualitechimique.org>

## Bon de commande

Nom ..... Prénom ..... Fonction .....

Adresse (pour les particuliers, préciser l'adresse personnelle).....

.....

.....

Code Postal ..... Ville ..... Pays .....

Tél. .... Fax ..... Courriel .....

Montant total de la commande :

### Mode de règlement

- sur facturation (joindre obligatoirement le bon de commande)
- par chèque bancaire ou postal libellé à l'ordre de la SCF  souhaite recevoir une facture acquittée
- par virement bancaire ou postal

France Société Générale Paris Seine Amont, 03081/00037265820/87

CCP Paris 30041 Compte 070786U020/90

Étranger IBAN FR7630003030810003726582087 Swift.Sogefrpp

par carte bancaire (Visa, Eurocard Mastercard)           Validité

Cryptogramme visuel (les trois derniers chiffres du numéro imprimé au dos)

L'Actualité Chimique

SCF, service abonnements, 250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris. Tél. : 01 40 46 71 66 - Fax : 01 40 46 71 61.

Courriel : [adhesion@sfc.fr](mailto:adhesion@sfc.fr) - Serveur : <http://www.lactualitechimique.org>

# L'Union des professeurs de physique et de chimie et la Société Chimique de France *Un pont entre l'enseignement et la recherche*

Pour connaître nos activités,  
le bulletin, le forum...

<http://www.udppc.asso.fr/>  
[secretariat.national@udppc.asso.fr](mailto:secretariat.national@udppc.asso.fr)

**ADHÉREZ**

**REJOIGNEZ  
L'ASSOCIATION**

**ABONNEZ-VOUS  
AU BUP**

**PARTICIPEZ  
AU CONGRÈS**

Toulouse  
24-27 octobre 2009

**ENVOYEZ  
DES  
ARTICLES**

[ichup.secretaire@udppc.asso.fr](mailto:ichup.secretaire@udppc.asso.fr)

**CONSULTEZ  
BUPDOC  
SUR LA TOILE**

<http://udppc.asso.fr/bupdoc/index.php>

**Siège social et courrier**

42, rue Saint-Jacques - CS 60504 - 75237 PARIS CEDEX 05

**Le site de l'Udppc** (adhésion et abonnement à partir du site)

<http://www.udppc.asso.fr/>

**Secrétariat administratif** (adhésion et abonnement)

Tél. / Fax : 01 40 46 83 80

