



UFR de Pharmacie de Grenoble

**Association des Enseignants-Chercheurs de  
Chimie Physique et Chimie Minérale  
des Facultés de Pharmacie**

**XIV<sup>èmes</sup> Journées de l'AECCPCM**

Grenoble  
12 et 13 avril 2007

# Programme

*Jeudi 12 avril 2006*

*A partir de 12 h :*

Accueil à la Faculté (RDC du Bâtiment Boucherle)

Installation des posters

Buffet offert par la Faculté

*14 h 00 :* Allocution d'accueil du Doyen de la Faculté (salle de conférence)

*14 h 10 :* Allocution du Président Christian JARRY

*14 h 20 :* Conférence du Pr Jean-Philippe VUILLEZ (PUPH) "La réforme de la première année de médecine"

*15 h 00 :* Présentation du Département de Pharmacochimie Moléculaire par le Pr Eric PEYRIN, Directeur adjoint du DPM

*15 h 30 :* Conférence du Pr Jean-Louis PIERRE, "Mobilisation du fer chez les organismes vivants : du complexant moléculaire aux systèmes nanostructurés"

*16 h 15 :* Remise des prix étudiants

*16 h 30 :* Pause-café / séance posters

*17 h 30 :* Départ pour une visite guidée du centre ville de Grenoble

*20 h 00 :* Dîner

*Vendredi 13 avril 2006*

*9 h 30 :* Assemblée Générale de l'Association

*10 h 50 :* Pause-café / séance posters

*Après-midi libre*

# Le mot du Président

Chers ami(e)s,

La réunion annuelle de notre association est un événement important dans la vie de l'AECCPCM. Elle nous donne l'occasion de nous retrouver et de discuter à bâtons rompus dans une ambiance détendue et conviviale. Mais elle permet aussi de faire le point et de réfléchir sur les questions relatives à l'avenir de nos disciplines d'enseignement, et à notre implication en tant que chercheurs. Il me semble très important de favoriser ces échanges informels, mais toujours enrichissants.

C'est pourquoi j'aurai plaisir à vous accueillir nombreux aux **XIVèmes Journées de l'AECCPCM, les 12 et 13 Avril à Grenoble**. Comme d'habitude un menu alléchant nous sera concocté par le Comité d'organisation local, mêlant sagement travail et détente.

Comme chaque année les sujets à débattre seront nombreux. Toutes les réformes programmées autour des études de Pharmacie ne verront (peut-être) pas le jour avant les échéances nationales, mais il convient de faire le point sur le devenir futur de nos disciplines de base (chimie physique/générale et chimie minérale). L'approche du LMD se précise pour le cursus pharmaceutique. Comment concilier dans le futur notre prétention à former les Pharmaciens et notre obligation à assurer les deux fonctions d'enseignant chercheur, comment construire (et développer) notre enseignement en maintenant une spécificité pharmaceutique ? Toute diminution des heures d'enseignement en chimie ne nous permettrait plus d'effectuer nos heures statutaires, avec les conséquences qui en découlent. D'un autre côté, les décrets d'application de la loi concernant le « CHU pharmaceutique » sont, à ce jour, toujours « sous presse ». Cette orientation voulue et novatrice ne manquera pas certainement d'avoir des conséquences importantes sur notre devenir au sein de l'Université.

Chacun de nous évolue dans un environnement spécifique, mais les questions touchant à l'enseignement de nos disciplines doivent être largement débattues entre nous. Cela justifie l'existence de l'AECCPCM au sein de laquelle vous devez vous retrouver en confiance. Chers collègues, au nom du Bureau, je vous invite à participer nombreux aux **XIVèmes Journées de notre Association, les 12 et 13 Avril à Grenoble**.

Au plaisir de vous retrouver à Grenoble, bien cordialement.

# Bienvenue à Grenoble

Chers collègues,

La Faculté de Pharmacie de Grenoble est heureuse de vous accueillir pour les XIV<sup>èmes</sup> Journées de notre association.

Nous y débattons de nos activités d'enseignement et de recherche et de l'évolution de nos structures.

Nous vous souhaitons des échanges fructueux et un excellent séjour à Grenoble au cœur des montagnes et nous sommes à votre disposition pour rendre votre séjour le plus agréable possible.

Le comité d'organisation

## Remerciements

Le comité d'organisation des XIV<sup>èmes</sup> Journées de l'AECCPCM tient à remercier tout particulièrement :

Madame le Doyen de notre Faculté, Madame Renée GRILLOT,

Monsieur Eric PEYRIN,

Monsieur Jean-Louis PIERRE,

Monsieur Jean-Philippe VUILLEZ.

Association des Enseignants-Chercheurs de Chimie Physique et Chimie  
Minérale des Facultés de Pharmacie

XIV<sup>èmes</sup> Journées de l'AECCPCM

Grenoble 12 et 13 avril 2007

Liste des participants

Amiens

RONCO Gino

Angers

BOUET Gilles

KAHN Mustayeen

PASSIRANI Catheine

Bordeaux

JARRY Christian

Clermont-Ferrand

AUZELOUX Philippe

GAUMET Vincent

Grenoble

DECOUT Jean-Luc

ROUTABOUL Christel

VANHAVERBEKE Cécile

Lille

MELNYK Patricia

Limoges

DELAGE Christiane

SIMON Alain

Marseille

GALLICE Philippe

Montpellier

BOUDEVILLE Philippe

COUDANE Jean-Luc

GARRIC Xavier

Nancy

MARCHAND Stéphanie

Nantes

BARNATHAN Gilles

DUNAY Justine

Paris V

CEOLIN René

ESPEAU Philippe

Paris VI

DUGUE Jérôme

Paris Sud

DELAFONTAINE Jean-Marc

Rennes

TOSCANI Siro

Rouen

BARBOT Cécile

Strasbourg

MAECHLING Clarisse

Toulouse

BAZIARD-MOUYSSET Genevieve

LAJOIE-HALOVA Barbora

STIGLIANI Jean-Luc

Tours

DELONCLE Roger

**PRESENTATION DES ACTIVITES**

**ET**

**RESUMES DES COMMUNICATIONS**



**SONAS**  
**SUBSTANCES D'ORIGINE NATURELLE**  
**ET ANALOGUES STRUCTURAUX**  
**(UPRES EA 921)**

Faculté de Pharmacie, 16 Boulevard Daviers  
49045 ANGERS Cedex 01

Directeur : Pr. Richomme

Téléphone : 02-41-22-66-00 - Télécopie : 02-41-22-67-09

**Thématique générale de recherche :**

Extraction, synthèse, hémisynthèse, caractérisation structurale de molécules organiques ou complexes d'intérêt biologique.

**Composition de l'équipe :**

- professeurs : 6
- maîtres de conférence : 6
- doctorants : 7
- étudiant en master 2 recherche : 1

**Principaux axes :**

- Extraction, hémisynthèse, caractérisation structurale : Pr. P. RICHOMME.
- Synthèse, hémisynthèse, caractérisation structurale de molécules d'intérêt biologique : Pr. O. DUVAL et Pr. D. SÉRAPHIN.
- Synthèse, caractérisation structurale et analytique de complexes : Pr. G. BOUET.

**Collaborations :**

- Laboratoire membre du GDR-CNRS 1206 "Substances Naturelles d'Intérêt Biologique", ICSN (Gif-sur-Yvette, Dr. T. SEVENET)
- Department of Medicinal Chemistry de l'Université de Strathclyde (Glasgow, Pr. R. WAIGH)
- Programme de recherche avec l'IRD, Amérique du Sud, Dr. A. FOURNET)
- Constantes de stabilité des complexes de la vitamine D : Dr. A.L. Mercê, Institut Polytechnique, Université Fédérale de Curitiba, Brésil.
- Synthèse et caractérisation de complexes de bases de Schiff : Universités d'Alger et de Sétif.
- Synthèse et caractérisation de complexes de phosphonates phénoliques : Université de Sétif.

**Enseignements de 3<sup>ème</sup> cycle :**

- Master recherche Ingénierie Moléculaire et Nanotechnologies, parcours chimie.

**PUBLICATIONS 2006**

**NMR metabolite profiling analysis reveals changes in phospholipid metabolism associated with the reestablishment of desiccation tolerance upon osmotic stress in germinated radicles of cucumber.**

M.H. Avelange-Macherel, B. Ly-Vu, J. Delaunay, P. Richomme, O. Leprince  
*Plant, Cell and Environment*, (2006), 29(4), 471-482.

**New cytotoxic guttiferone analogues from *Garcinia virgata* from New Caledonia.**

J. Merza, S. Mallet, M. Litaudon, V. Dumontet, D. Séraphin, P. Richomme  
*Planta Medica* (2006), 72(1), 87-89.

**Three 1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosides from the seeds of *Afrostryax lepidophyllus* Mildbr.**

A.N. Ngane, M. Lavault, D. Séraphin, A. Landreau, P. Richomme  
*Carbohydrate Research*, (2006), 341(17), 2799-2802.

**Synthesis and antifungal activity of new thienyl and aryl conazoles.**

F. Chevreuil, A. Landreau, D. Séraphin, G. Larcher, J.P. Bouchara, P. Richomme  
*Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, (2006), 21(3), 293-303.

**Non-symmetrical tetradentate Schiff's base complexes derived from 2,3-diaminophenol and salicylaldehyde or its derivatives.**

A. Ourari, W. Moumeri, L. Sibous, G. Bouet and M. Khan  
*Transition Metal Chemistry*, 2006, **31**(2), 169-175.

**Speciation studies of iron(III) with (poly)phosphonate ligands: The case of EDTMP (Ethylenediamine tetramethylene phosphonic acid).**

C. Matescu, E. Princz, G. Bouet, M.A. Khan  
*Phosphorus, Sulfur, Silicon and Related Elements*, 2006, **181**(4), 947-958.

**Potentiometric and UV-visible spectrophotometric studies on the stability of thorium(IV) complexes with (*o*-hydroxyphenyl mono- and di- methylenephosphonic acids.**

E. Bentouhami, G.M. Bouet, M.J. Schwing, M.A. Khan  
*J. of Solution Chemistry*, 2006, **35**(6), 889-916.

**Structural and electrochemical studies of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Cd(II) complexes with a new symmetrical N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Schiff base. Crystal structure of the ligand 1,2-di[4-(2-imino 4-oxo pentane)phenyl]ethane.**

A. Ghames, T. Douadi, D. Haffar, S. Chafaa, M. Allain, M.A. Khan, G.M. Bouet  
*Polyhedron*, 2006, **25**(16), 3201-3208.

## ACTIVITÉS D'ENSEIGNEMENT

### Première année :

- chimie physique : cours 36 h, enseignement dirigé 12 séances de 1 h 30
- chimie bio inorganique : cours 15 h, enseignement dirigé 4 séances de 1 h 30

### Deuxième année :

- travaux pratiques « gestes de base » : 4 séances
- travaux pratiques spécifiques : 1 séance (constante d'équilibre)

### Troisième année :

- cours de chimie bio inorganique et thérapeutique (12 h)

### Autres enseignements

- option « analyse et contrôle » : analyse thermique et électrochimie
- option « internat » : méthodes électrochimiques
- cours 15 h et enseignement dirigé 5 h de chimie générale PCEM1

## UNIVERSITE VICTOR SEGALEN BORDEAUX 2

### Laboratoire de Chimie Physique et Minérale

C. Jarry (Pr.) ; J.-M. Léger (Pr.)  
I. Forfar Bares (MCU) ; J. Guillon (MCU) ; L. Azema (MCU)  
S. Massip (technicien)  
F. Sarsa (AT 50%)  
C. Vidailiac (Doctorant)  
B. Baptiste (Doctorant)

#### ENSEIGNEMENT

##### UFR des Sciences Pharmaceutiques

##### *Chimie Physique et Minérale*

1<sup>ère</sup> année de Pharmacie (cours, ED)  
2<sup>ème</sup> année de Pharmacie (cours, ED, TP)

##### *Chimie Inorganique*

Master Pro eau, environnement, santé (cours)

##### *Chimie Bioinorganique*

3<sup>ème</sup> année de Pharmacie : UE H (Préparation à l'Internat) (cours, ED)  
4<sup>ème</sup> année de Pharmacie : UE H1 (Préparation à l'Internat) (cours, ED)

##### *Pharmacochimie*

DIU Pharmacologie et Pharmacocinétique (cours)  
DU Pharmacochimie fondamentale et clinique (cours)  
Master 1 : « Conception et Structure de Molécules à Intérêt Thérapeutique » (cours, ED)  
Master 2 (cours)

##### UFR des Sciences de la Vie

##### *Licence de Biochimie*

2<sup>ème</sup> année (cours, ED)  
3<sup>ème</sup> année (cours, ED)

#### RECHERCHE

##### EA 2962 PHARMACOCHEMIE

UFR des Sciences Pharmaceutiques - 146, rue Léo Saignat - 33076 Bordeaux cedex  
Tél : 05 57 57 46 95 - Fax : 05 57 57 13 52

#### Thèmes de recherche

Pharmacochimie  
Conception et synthèse d'agents thérapeutiques  
Relation structure-activité - Modélisation moléculaire  
Détermination de paramètres de lipophilie  
Détermination structurale  
Radiocristallographie - Polymorphisme

## EA 2962 - Pharmacochimie - Publications 2006

1. S. MASSIP, J. GUILLON, D. BERTARELLI, J.-J. BOSCH, J.-M. LEGER, S. LACHER, C. BONTEMPS, T. DUPONT, C. E. MULLER, C. JARRY.

Synthesis and preliminary evaluation of new 1- and 3-[1-(2-hydroxy-3-phenoxypropyl)]xanthines from 2-amino-2-oxazolines as potential A1 and A2A adenosine receptor antagonists.

*Bioorg. Med. Chem.*, 2006, 14, 2697-2719.

2. C.ZHAN, J.-M.LEGER, I.HUC.

Cross-hybridization of pyridinedicarboxamide helical strands and their N-oxides.

*Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, 45, 4625-4628.

3. V.SPIRES, F.GABORIAU, J.GUILLON, S.DA NASCIMENTO, A.DASSONVILLE, G.LESCOAT, V.DESPLAT, J.ROCHETTE, C.JARRY, P.SONNET.

Modulation of cell proliferation in rat liver cell cultures by new calix[4]arenes.

*J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, 2006, 21, 261-270.

4. C.BIOT, W.DAHER, C.M.NDIAYE, P.MELNIK, B.PRADINES, N.CHAVAIN, A.PELLET, L.FRAISSE, L.PELINSKI, C.JARRY, J.BROCARD, J.KHALIFE, I.FORFAR, D.DIVE.

Probing the role of the covalent linkage of ferrocene into a chloroquine template.

*J. Med. Chem.*, 2006, 49, 4707-4714.

5. M.LARDIC, C.PATRY, M.DUFLOS, J.GUILLON, S.MASSIP, F.CRUZALEGUI, T.EDMONDS, S.GIRAUDET, L.MARINI, S.LEONCE.

Synthesis and primary cytotoxicity evaluation of arylmethylenenaphthofuranones derivatives.

*J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, 2006, 21, 313-325.

6. D.HALDAR, H.JIANG, J.-M.LEGER, I.HUC.

Interstrand interactions between side chains in a double-helical foldamer.

*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2006, 45, 5483-5486.

7. L.CRANE, M.ANASTASSIADOU, S.EL HAGE, J.-L.STIGLIANI, G.BAZIARD-MOUYSSET, M.PAYARD, J.-M.LEGER, J.-G.BIZOT-ESPIARD, A.KTORZA, D.-H.CAIGNARD, P.RENARD.

Design and synthesis of novel imidazoline derivatives with potent antihyperglycemic activity in a rat model of type 2 diabetes.

*Bioorg. Med. Chem.*, 2006, 14, 7419-7433.

8. C. BIOT, W. DAHER, C. M.NDIAYE, P. MELNYK, B. PRADINES, N. CHAVAIN, A. PELLET, L. FRAISSE, L. PELINSKI, C. JARRY, J. BROCARD, J. KHALIFE, I. FORFAR-BARES, AND D. DIVE.

Probing the role of the covalent linkage of ferrocene into a chloroquine template.

*J. Med. Chem.*, 2006, 49, 4707-4714.

9. G. GBABODE, P. NEGRIER, D. MONDIEG, J.-M. LEGER, E. MORENO, T. CALVET, M. A. CUEVAS-DIARTE.

Crystal Structure of the B' Form of Nonadecanoic Acid

*Anal. Sci.*, 2006, 22, x269-x270.

10. E.R.GILLIES, C.DOLAIN, J.-M.LEGER, I.HUC.

Amphipathic helices from aromatic amino acid oligomers.

*J. Org. Chem.*, 2006, 71, 7931-7939.

11. P.PUIG, J.GUILLON, S.MASSIP, C.JARRY, J.-M.LEGER, P.HIVOREL.

Crystal structure of Flurogestone Acetate.

*Anal. Sci.*, 2006, 22, x257-x258.

## Modulation of cell proliferation in rat liver cell cultures by new calix[4]arenes<sup>1</sup>

VIVIANE SILVA PIRES<sup>1</sup>, FRANÇOIS GABORIAU<sup>2</sup>, JEAN GUILLON<sup>3</sup>, SOPHIE DA NASCIMENTO<sup>1</sup>,  
ALEXANDRA DASSONVILLE<sup>1</sup>, GERARD LESCOAT<sup>2</sup>, VANESSA DESPLAT<sup>4</sup>, JACQUES ROCHETTE<sup>1</sup>,  
CHRISTIAN JARRY<sup>3</sup>, & PASCAL SONNET<sup>1</sup>

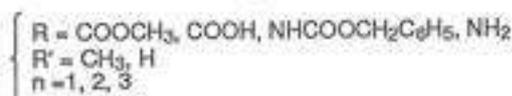
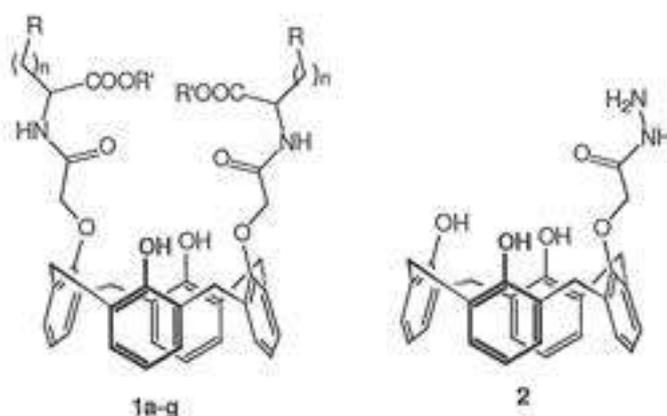
<sup>1</sup>EA 3901 - DMAG, UFR de Pharmacie et de Médecine, Université de Picardie Jules Verne, 1 rue des Louvels,  
80037 Amiens, France,

<sup>2</sup>Inserm U522, Régulations des Equilibres Fonctionnels du Foie Normal et Pathologique, Université Rennes 1,  
Hôpital Pontchaillou, 2 rue Henri Le Guilloux, 35033, Rennes Cedex, France,

<sup>3</sup>EA 2962 - Pharmacochimie, UFR des Sciences Pharmaceutiques, Université Victor Segalen Bordeaux 2, 146 rue  
Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex, France,

<sup>4</sup>EA 3677 - Bases Thérapeutiques des Inflammations et Infections, UFR des Sciences Pharmaceutiques,  
Université Victor Segalen Bordeaux 2, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex, France

Cell cycle progression is dependent on intracellular iron level and chelators lead to iron depletion and decrease cell proliferation. This antiproliferative effect can be inhibited by exogenous iron. In this work, we present the synthesis of new synthetic calix[4]arene podands 1-2 bearing two aspartic/glutamic acid, ornithine groups or hydrazide function at the lower rim, designed as potential iron chelators. The synthesis only afforded calix[4]arenes in the cone conformation.



Herein, we report their effect on cell proliferation, in comparison with the new oral chelator ICL670A (4-[3,5-bis-(2-hydroxyphenyl)-1,2,4-triazol-1-yl]-benzoic acid). The antiproliferative effect of these new compounds was studied in the rat hepatoma cell line Fao by measuring mitochondrial succinate dehydrogenase activity. Their cytotoxicity was evaluated by extracellular LDH activity. Preliminary results indicated that among all tested compounds, monohydrazidocalix[4]arene 2 which is not cytotoxic in Fao cells exhibits interesting antiproliferative activity. This effect, independent on iron depletion, remains to be further explored. Moreover, it also shows that new substituted calix[4]arenes could open the way to new valuable medicinal chemistry scaffolding.

1. V. Silva Pires, F. Gaboriau, J. Guillon, S. Da Nascimento, A. Dassonville, G. Lescoat, V. Desplat, J. Rochette, C. Jarry, P. Sonnet. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, 2006, 21, 261-270.



## Faculté de Pharmacie de Clermont-Ferrand

### Laboratoire de Chimie Physique et Minérale



✉ 28, place Henri Dunant - BP 38 - 63001 Clermont-Ferrand cedex 01

☎ 04 73 17 80 00

Site Internet : <http://pharmacie.u-clermont1.fr/chimiephysique>

☎ 04 73 17 80 01

E-mail : [jacques.metin@u-clermont1.fr](mailto:jacques.metin@u-clermont1.fr)

### Personnel

Jacques MÉTIN, Pr (Responsable)  
Philippe AUZELOUX, MCU  
Vincent GAUMET, MCU

Abbass TALEB, ATER  
Fernand LÉAL, Assistant Ingénieur  
Delphine BAUMANN, Monitrice

### Activités pédagogiques

#### • Formation commune de base

Chimie Physique	cours	T.D.	T.P.
1 <sup>ère</sup> année de Pharmacie	44	18	—
1 <sup>ère</sup> année de Médecine	17	6	—
Année préparatoire à l'école de Masso-Kinésithérapie	17	6	—
Chimie Générale et Minérale	cours	T.D.	T.P.
2 <sup>ème</sup> année de Pharmacie	33	6	9
Travaux pratiques d'apprentissage des techniques et gestes de base			
2 <sup>ème</sup> année de Pharmacie	<i>Initiation à la manipulation</i>		9
	<i>Instrumentation</i>		3
	<i>Gestes de base en Chimie</i>		9
Travaux pratiques d'Analyse Instrumentale			
2 <sup>ème</sup> année de licence de Sciences de la Vie et de la Santé (L2)			9
2 <sup>ème</sup> année DEUST, Technicien en pharmacie industrielle			9
Stages pratiques au Laboratoire pour la validation de "crédits libres"			
2 <sup>ème</sup> année de licence de Sciences de la Vie et de la Santé (L2)			35
3 <sup>ème</sup> année de licence de Sciences de la Vie et de la Santé (L3)			35

#### • Unités d'Enseignement optionnelles (U.E.)

	cours	T.D.	T.P.
3 <sup>ème</sup> année de Pharmacie :			
Analyse instrumentale et structurale (U.E. F2)	10	5	—
4 <sup>ème</sup> année de Pharmacie :			
Préformulation du principe actif (U.E. F3)	2	—	2
Stage Recherche M1 "étudiants en santé"	10 semaines de stage au laboratoire		

## Activités de recherche

Notre laboratoire est intégré dans l'Unité Mixte de Recherche INSERM 484 "Étude Métabolique des Molécules Marquées". Cette unité mixte [Inserm -Centre Jean Perrin - Université d'Auvergne] est une équipe pluridisciplinaire où sont développées des recherches sur le médicament dans le domaine du diagnostic et de la thérapeutique anticancéreuse.

Dans cette unité, quatre grands thèmes sont explorés :

- thème 1 : Nouveaux radiopharmaceutiques - applications potentielles en cancérologie.
- thème 2 : Chimiothérapie anticancéreuse, nouveaux principes actifs, facteurs de résistance et essais cliniques.
- thème 3 : Nutriment et Cancer.
- thème 4 : Analyse structurale et Isotopes.

Les travaux de notre laboratoire s'inscrivent dans trois de ces thèmes :

### Marquages radioactifs avec le technétium-99m (thème 1) :

En collaboration avec le laboratoire SEESIB<sup>1</sup>, nous avons réalisé la synthèse de complexes nitruro-technétiés (<sup>99m</sup>TcN) à partir de molécules cycliques de la famille des dicétals diamines à 14 chaînons (homologues oxygénés des cyclames et bicyclames).

*Thèse soutenue le 14 décembre 2005 par Radouane Affani.*

### Chimiothérapie et mélanome malin (thème 2) :

Synthèse, caractérisation et évaluation biologique de nouvelles molécules inhibitrices du protéasome (complexe protéolytique intra-cytoplasmique). Le protéasome étant ubiquitaire, la difficulté est de réaliser un ciblage tumoral de ces inhibiteurs. Nous avons choisi le ciblage du mélanome malin en incorporant une structure benzamide connue pour sa très forte affinité pour la mélanine contenue dans les tissus tumoraux. Des marquages radioactifs de ces structures ont été réalisés en incorporant de l'iode 125 afin d'en évaluer les propriétés biologiques<sup>(\*)</sup>.

Un deuxième axe de recherche est la vectorisation de molécules anticancéreuses, travail présenté dans une communication par affiche.

*(\*)Thèse soutenue le 22 juillet 2005 par Magali Vivier.*

### Analyses structurales (thème 4):

En collaboration avec nos collègues du Laboratoire de Chimie Organique de la faculté de Pharmacie, nous travaillons à la synthèse de nouvelles molécules de la famille des imidazopyridines, potentiellement actives en tant qu'anticancéreux, antibactériens ou anti-viraux. Nous collaborons également avec d'autres équipes aux déterminations structurales par diffraction des rayons X de molécules inédites.

## Recherche de nouvelles molécules anticancéreuses : marquage au carbone-14 de dérivés du chlorambucil

### Présentation du sujet :

Le principal frein au développement des chimiothérapies anticancéreuses est leurs non spécificités vis à vis du tissu tumoral. Cela se traduit dans le meilleur des cas par la mise sur le marché de composés dotés de lourds effets secondaires souvent mal tolérés, ou dans l'immense majorité des cas par l'abandon de très nombreuses molécules pour des raisons de toxicité. Parallèlement à la recherche de nouvelles cibles, le développement de chimiothérapies vectorisées peut permettre de faire progresser la lutte contre le cancer. C'est dans le cadre de cette dernière stratégie que se situe ce travail de marquage au carbone-14 du chlorambucil. Notre unité de recherche étudie plusieurs structures chimiques capables de réaliser un ciblage du tissu tumoral pour plusieurs pathologie cancéreuses (chondrosarcome, mélanome malin). La stratégie suivie est le couplage chimique entre un principe actif reconnu (ici le chlorambucil) et une structure nouvelle responsable du ciblage des cellules tumorales. Les études biologiques de validation de la démarche imposent qu'une biodistribution au moyen de la molécule radio-marquée, soit effectuée. Notre choix du radioisotope s'est porté sur le carbone-14.

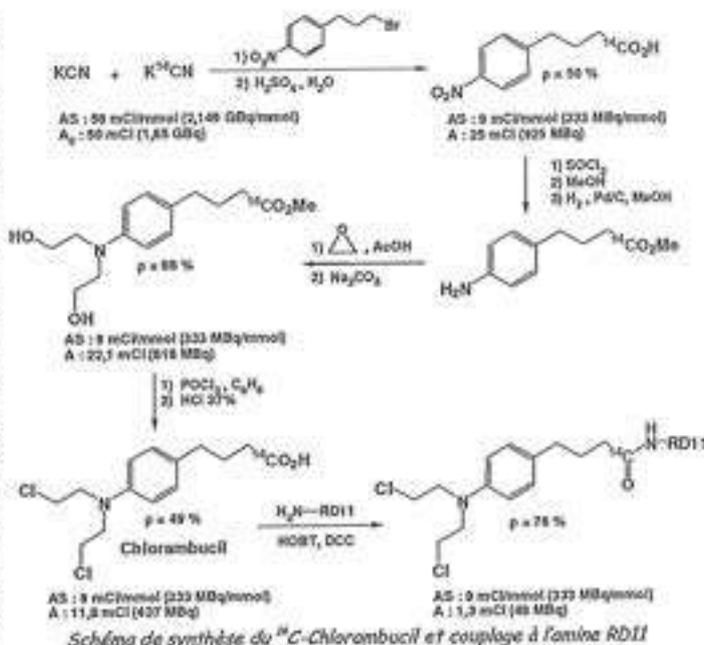


Schéma de synthèse du <sup>14</sup>C-Chlorambucil et couplage à l'amine RD11

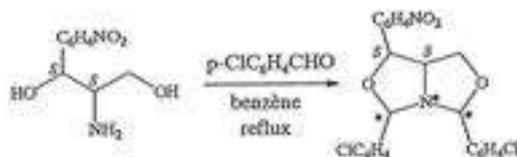
### Résultats :

A partir de <sup>14</sup>C-cyanure de potassium (AS=58 mCi/mmol, 50 mCi), 400,0 mg de chlorambucil marqué sont obtenus en 7 étapes (p=22% ; AS=9 mCi/mmol). La pureté radiochimique HPLC est >99%. Ce chlorambucil est conservé afin de servir au marquage de plusieurs composés vecteurs (actuellement trois molécules sont sélectionnées). Un premier couplage peptidique classique a été réalisé avec l'amine RD11 et donne un rendement après colonne de 76% pour conduire à 110,3 mg d'amide (AS=9 mCi/mmol ; pureté radiochimique HPLC>98%).

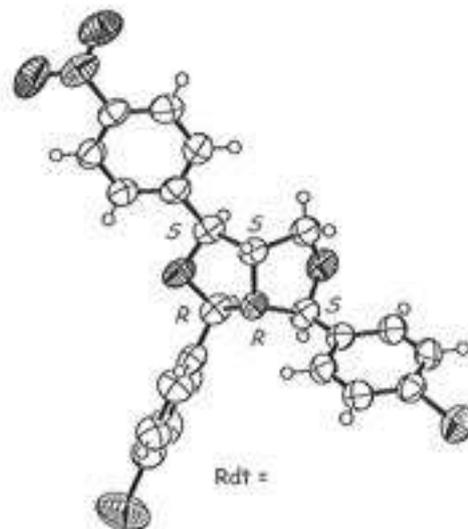
Ce travail a été réalisé en collaboration avec Valérie Weber, MCU au laboratoire de Chimie Thérapeutique de la faculté de Pharmacie de Clermont-Ferrand

### Déterminations structurales par diffraction des rayons X

Le composé (1S,2S)-2-amino-1-(4-nitrophenyl)-1,3-propanediol peut être utilisé pour la synthèse de composés contenant un cycle oxazolidine.



Après cette réaction, trois nouveaux centres asymétriques apparaissent. Des études spectroscopiques RMN révèlent la présence de seulement trois stéréoisomères, sur les huit possibles en théorie, dans les proportions 12:1:1. Les calculs d'énergie par modélisation moléculaire confirment en partie ce résultat. Cinq structures sont effectivement très défavorables sur le plan énergétique, les 3 isomères restants présentent de plus faibles différences énergétiques (~ 1 kcal/mol). Une étude structurale par diffraction des rayons X a permis de déterminer la configuration absolue du produit majoritaire.



(1R,2R,4S,5S,8S)-2,8-bis(4-chlorophenyl)-4-(4-nitrophenyl)-1-aza-3,7-dioxabicyclo[3,3,0]octane

Ce travail a été réalisé en collaboration avec l'Université de Samara (Russie)

## UFR de Pharmacie de Grenoble

Equipe de Chimie Bio-organique, Département de Pharmacochimie Moléculaire (DPM)  
UMR 5063 CNRS/Université Joseph Fourier-Grenoble  
Institut de Chimie Moléculaire de Grenoble (ICMG) FR CNRS 2607

Jean-Luc DECOUT PU (39<sup>ème</sup> section)  
Jérôme DESIRE MCU (40<sup>ème</sup> section)

Christel ROUTABOUL PrAg  
Cécile VANHAVERBEKE MCU (39<sup>ème</sup> section, 80%)

Isabelle BAUSSANNE CR CNRS (80%)  
Marie-Carmen MOLINA Technicienne (80%)  
Post-doctorant : Indrajit DAS, Doctorant : Benjamin BOUCHERLE ; Etudiant de M2 : Frédérick NUTER

### Enseignement

PCEP 1 : Chimie Physique, Chimie Organique, Culture Générale ; PCEM 1 : Chimie  
PCEP 2 : Chimie Inorganique et Bio-Inorganique  
PCEP 4 : Anti-infectieux, Anticancéreux  
Master Chimie « Chimie Biologie », Master Médecine-Pharmacie « Ingénierie pour la Santé et Médicament »  
: UE de M1 et M2

### Recherche

Synthèse de composés d'intérêt thérapeutique, antiviraux, antibiotiques ou antitumoraux, agissant sur les acides nucléiques ou interférant avec la biosynthèse de ces macromolécules.  
Outils pour la biologie et la santé : biopuces à ADN.

- 1- Aminoglycosides antibiotiques ou antiviraux : I. Baussanne, J. Désiré, C. Vanhaverbeke.
- 2- Thionucléosides antitumoraux ou antiviraux inactivant la ribonucléotide réductase et/ou inhibant la rétro-transcription du VIH : Frédérick Nuter, J. Désiré.
- 3- Modifications des bases nucléiques, pharmacologie du canal CFTR/Molécules activatrices et inhibitrices : Thèse de B. Boucherle, M.-C. Molina ; GDR CNRS/CNES Exobiologie, COST "ARN".

### Publications, brevets

P. Simon, C. Dueymes, M. Fontecavé, J.-L. Décout. DNA Detection through signal amplification using NADH:Flavin oxidoreductase and oligonucleotide-flavin conjugates as cofactors. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 2-5.

E. Riguet, J. Désiré, O. Boden, V. Ludwig, M. Göbel, C. Bailly, J.L. Décout. Neamine dimers targeting the HIV-1 TAR RNA. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 4651-4655.

P. Simon, J.-L. Décout, M. Fontecave. Sequence-specific nucleic acid damage induced by peptide nucleic acid conjugates that can be enzyme-activated. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 6859-6861.

E. Ennifar, J.-C. Paillart, S. Bernacchi, P. Walter, P. Pale, J.-L. Décout, R. Marquet, P. Dumas. A structure-based approach for targeting the HIV-1 genomic RNA dimerization initiation site. *Biochimie* sous presse.

J.-L. Décout, B. Gerland, J. Désiré. Procédé pour l'obtention de disulfures et thiosulfates et composés obtenus. Demande de brevet 06/03614 du 24 avril 2006 (Université de Grenoble/CNRS).

J.-L. Décout, B. Gerland, J. Désiré, M. Lepoivre, J. Balzarini. Thionucléosides antiviraux ou antiprolifératifs. Demande de brevet du 27 octobre 2006 (Université de Grenoble/CNRS).

E. Peyrin, J.-L. Décout, C. Ravelet, I. Baussanne. Nouveaux dérivés d'aminoglycosides : synthèse et application à la séparation d'énantiomères. Demande de brevet du 16 mars 2007 (Université de Grenoble/CNRS).

**Laboratoire de Chimie Générale et Bio-inorganique**  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille  
Université de Lille 2

Professeurs :	Christian Sergheraert, Benoit Déprez (Inserm U761), Patricia Melnyk (UMR8161).
Maîtres de Conférences :	Rébecca Déprez-Poulain, Pierrette Maes-Aumercier, Sophie Girault-Mizzi.
Assistant ingénieur :	Hervé Drobecq
Adjointes techniques :	Marie-Ange Debreu-Fontaine, Emmanuelle Boll
ATER :	Marion Filipo, Antoine Richard, Magali Vivier
Doctorants :	Bertrand Dirié, Nicolas Cousaert (Interne en pharmacie spécialisée), Emilia Paunescu, Marion Toussaint, Alexandre Barras

**Activités pédagogiques**

Faculté de Pharmacie, 3 rue du Professeur Laguesse, B.P. 83, 59006 Lille cedex  
Tél.: 03 20 96 40 40 - Fax: 03 20 96 47 09

**Cours magistraux :**

Pharmacie :	
Chimie Générale	1ère année de Pharmacie
Culture Générale	1ère année de Pharmacie
Chimie Bio-Inorganique	2ème année de Pharmacie
Option Industrie UV7 et i2	5ème année de Pharmacie
Chimie Générale :	1ère année de Médecine
Chimie Organique	1ère année de Médecine
Stratégies en Chimie Thérapeutique	Maîtrise C1
Molécules d'intérêt thérapeutique	Maîtrise
Institut lillois d'Ingénieurs Santé (3ème année)	
MASTER "Sciences de la Vie et de la Santé"	Ecole Doctorale ED 446
MASTER "Conception du médicament"	Ecole Doctorale ED 446
DEUST Santé Environnement	
Licence Professionnelle Santé et Environnement Technologique	

**Enseignements Dirigés :**

Chimie Générale	1 <sup>ère</sup> année de Pharmacie
Chimie Générale	DEUST Santé/Environnement
Chimie Fondamentale	1 <sup>ère</sup> année de Médecine
Chimie Organique	1 <sup>ère</sup> année de Médecine

**Travaux Pratiques :**

Chimie Générale	2 <sup>ème</sup> année de Pharmacie
Chimie Générale	DEUST Santé/Environnement

**Ouvrage pédagogique**

Benoit Déprez

Le criblage à haut contenu d'information pour la génétique chimique directe (criblage phénotypique sur organismes) et inverse (criblage structural par RMN)

Livre de cours, Acte de colloque, Presses Universitaires de Grenoble, EDP Sciences, collection Grenoble Science, 2006, (sous presse)

## Activités de recherche

### INSERM U761 Biostructures et découverte de médicaments

Pr Benoit DEPRez, Dr Rébecca Poulain Déprez, Dr Marion Flipo, Dr Magali Vivier

Terence Beghyn, Candide Hounsou, Benoit Deprez

PDE5 inhibitors: an original access to novel potent arylated analogues of tadalafil.

*Bioorg Med Chem Lett.* 2007 Feb 1;17(3):789-792. [Epub 2006 Oct 27.](#)

Flipo M, Beghyn T, Charton J, Leroux VA, Deprez BP, Deprez-Poulain RF.

A library of novel hydroxamic acids targeting the metallo-protease family: design, parallel synthesis and screening.

*Bioorg Med Chem.* 2007 Jan 1;15(1):63-76. [Epub 2006 Oct 12.](#)

Marion Flipo, Terence Beghyn, Virginie Leroux, Isabelle Florent, Benoit P Deprez, Rébecca F Deprez-Poulain

Novel selective inhibitors of the Zinc plasmodial aminopeptidase Pfa-M1 as potential antimalarial agents

*Journal of Medicinal Chemistry*, 2007, [jm061169b](#), [Epub 2007Feb 28 \(Supporting Information S1-S7\)](#)

Melnyk P, Leroux V, Sergheraert C, Grellier P.

Design, synthesis and in vitro antimalarial activity of an acylhydrazone library.

*Bioorg Med Chem Lett.* 16, 1, 31-5. (2006) [[Epub 2005 Nov 2.](#)

PMID: 16263280 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Patrick Toto, Jean-Claude Gesquière, Nicolas Cousaert, Benoit Déprez, Nicolas Willand

The U.F.U. reaction (Ullmann-Finkelstein-Ullmann) a new multicomponent reaction.

*Tetrahedron Letters*, 47, 28, 4973-4978, (2006)

Patrick Toto, Jean-Claude Gesquière, Benoit Déprez, Nicolas Willand

Synthesis of N-(iodophenyl)-amides via an unprecedented Ullmann-Finkelstein tandem reaction

*Tetrahedron Letters*, 47, Z, 1181-1186 (2006)

Benoit Déprez, Rébecca Déprez-Poulain

Trends in Hit-to-Lead : an update

*Future in Medicinal Chemistry*, 2006, 3, 653-673 (2006)

Caroline Smet, Jean-Frédéric Duckert, Jean-Michel Wieruszkeski, Isabelle Landrieu, Luc Buée, Guy Lippens, and Benoit Déprez.

Control of protein-protein interactions: structure-based discovery of low molecular weight inhibitors of the interactions between Pin1 WW domain and phosphopeptides.

*J.Med.Chem.* , 2005, 48, 15, 4815-4823 (2005)

Nicolas Cousaert, Patrick Toto, Nicolas Willand, and Benoit Déprez.

Efficient, Protection-Free Suzuki-Miyaura Synthesis of ortho-biphenyltetrazoles.

*Tetrahedron Letters*, 2005, 46, 38, 6529-6532 (2005)

Déprez-Poulain R, Melnyk P.

Libraries of 1,4-bis(aminopropyl)piperazine antimalarials : from discovery to the coming generation.

*Comb. Chem. And High Through. Screen. Review*, 2005, 8, (1), 39-48

Coutsinos, Z., Villefroy, P., Gras-Masse, H., Gullet, J. G., Bourgault-Villada, I.

Evaluation of SIV-lipopeptide immunizations administered by the intradermal route in their ability to induce antigen specific T-cell responses in rhesus macaques

*FEMS Immunol Med Microbiol*, 2005, 43, (3), 357-66

Bourel-Bonnet, L., Pecheur, E. I., Grandjean, C., Blanpain, A., Baust, T., Melnyk, O., Hoflack, B., Gras-Masse, H.

Anchorage of synthetic peptides onto liposomes via hydrazone and alpha-oxo hydrazone bonds. preliminary functional investigations

*Bioconjug Chem*, 2005, 16, 2, 450-7

## Brevets

Deprez Benoit, Willand Nicolas, Dirie Bertrand, Toto Patrick  
Composés à effet potentialisateur de l'activité de l'éthionamide et leurs applications.  
Juillet 2006

Deprez Benoit, Beghyn Terence, Laconde Guillaume  
Composés hétérocycliques antiparasitaires, en particulier antipaludiques,  
«Chiral tetra-hydro beta-carboline derivatives, applications thereof as  
antiparasitic compounds », 10 octobre 2006 (Brevet européen : 06291582.2)

UMR8161 « Institut de Biologie de Lille » (CNRS – Université Lille1 – Université Lille2 – Institut Pasteur de Lille) Equipe « Chimie et MicroNanotechnologies à Visée Thérapeutique »  
Pr Patricia MELNYK, Dr Sophie Girault-Mizzi, Dr Antoine Richard

### "The proteome and secretome of human arterial smooth muscle cells"

Dupont, A.; Corseaux, D.; Dekeyser, O.; Drobecq, H.; Guihot, A.L.; Susen, S.; Vincentelli, A.; Amouyel, P.; Jude, B.; Pinet, F.  
*Proteomics* **2005**, *5*(2), 585-96.

"1,4-bis(3-aminopropyl)piperazine libraries : from the discovery of classical chloroquine-like antimalarials to the identification of new targets"

Déprez-Poulain, R.; Melnyk, P.  
*Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2005**, *8*(1), 39-48

### "Design, synthesis and antimalarial evaluation of new N'-(7-chloro-4-quinolyl)-1,4-bis(3-aminopropyl)piperazine Derivatives"

Ryckebusch, A.; Debreu-Fontaine, M.-A.; Mouray, E.; Grellier, P.; Sergheraert, C.; Melnyk, P.  
*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 297-302.

### "Conversion of sterically hindered diacylated 1,2-phenylenediamines into 2-substituted benzimidazoles"

Charton, J.; Girault-Mizzi, S.; Sergheraert, C.  
*Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53* (5), 492-497.

### "Galectin-4 and sulphatides in apical membrane trafficking in enterocyte-like cells"

Delacour, D.; Gouyer, V.; Zanetta, J.P.; Drobecq, H.; Leteurtre, E.; Grard, G.; Moreau-Hannedouche, O.; Maes, E.; Pons, A.; André, S.; LeBivic, A.; Gabius, H.J.; Manninen, A.; Simons, K.; Huet, G.  
*J. Cell. Biol.* **2005**, *169* (3), 491-501.

"Synthesis and pharmacological evaluation of Tic-Hydantoin derivatives as selective  $\sigma 1$  ligands. Part 1"

Charton, J.; Cazenave Gassiot, A.; Girault-Mizzi, S.; Debreu-Fontaine, M.-A.; Melnyk, P.; Sergheraert, C.  
*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4833-4837.

"Synthesis and pharmacological evaluation of Tic-Hydantoin derivatives as selective  $\sigma 1$  ligands. Part 2"

Cazenave Gassiot, A.; Charton, J.; Girault-Mizzi, S.; Gilleron, P.; Debreu-Fontaine, M.-A.; Sergheraert, C.; Melnyk, P.  
*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4828-4832.

### "Phosphorylation of amyloid precursor carboxy-terminal fragments enhances their processing by gamma-secretase dependent mechanism"

Vingtdeux, V.; Hamdane, M.; Gompel, M.; Begard, S.; Drobecq, H.; Ghestem, A.; Grosjean, M.-E.; Kostanjevecki, V.; Grognet, P.; Vanmechelen, E.; Buée, L.; Delacourte, A.; Sergeant, N.  
*Neurobiology of Disease* **2005**, *20*, 625-637.

### "Design, synthesis and in vitro antimalarial activity of an acylhydrazone library"

Melnyk, P.; Leroux, V.; Grellier, P.; Sergheraert, C.  
*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 31-35.

### "Expression and purification of recombinant vascular endothelialstatin"

Caetano, B.; Drobecq, H.; Soncin, F.  
*Protein Exp Purif* **2006**, *46*(1), 136-142.

" Probing the role of the covalent linkage of ferrocene into a chloroquine template"

Biot, C.; Daher, W.; Jarry, C.; Ndiaye, E.H.C.M.; Pelinski, L.; Khalife, J.; Fraisse, L.; Brocard, J.; Melnyk, P.; Forfar Bares, I.; Dive, D.  
*J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 4707-4714.

### " Similar Structure Activity Relationships of Quinoline Derivatives for antiprion and antimalarial effects"

Klingenstein, R.; Melnyk, P.; Leliveld, R. S.; Ryckebusch, A.; Korth, C.  
*J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5300-5308.

- « *Biochemical staging of synucleinopathy and amyloid deposition in dementia with Lewy bodies*»  
Deramecourt, V.; Bombols, S.; Maurage, C.; Ghestem, A.; Drobecq, H.; Vanmechelen, E.; Lebert, F.; Pasquier, F.; Delacourte, A.  
*J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2006**, 65(3), 278-288.
- « *Requirement for galectin-3 in apical protein sorting*»  
Delacour, D.; Cramm-Behrens, C.I.; Drobecq, H.; LeBivic, A.; Naim, H.Y.; Jacof, R.  
*Curr. Biol.* **2006**, 16(4), 408-414.
- « *Mycobacterium smegmatis produces an HBHA homologue which is not involved in epithelial adherence*»  
Biet, F.; Angela de Melo Marques, M.; Grayon, M.; Xavier da Silveira, E.K.; Brennan, P.J.; Drobecq, H.; Raze, D.; Vidal Pessolani, M.C.; Loch, C.; Menozzi, F.D.  
*Microbes Infect.* **2007**, sous presse.
- « *Enzymatic methylation of the Mycobacterium tuberculosis heparin-binding haemagglutinin*»  
Host, H.; Drobecq, H.; Loch, C.; Menozzi, F.D.  
*FEMS Microbiol. Lett.* **2007**, sous presse.
- « *Synthesis and Antimalarial Activity of New Analogues of Amodiaquine*»  
Delarue-Cochin, S.; Paunescu, E.; Maes, L.; Mouray, E.; Sergheraert, C.; Grellier, P.; Melnyk, P.  
*Eur. J. Med. Chem.* **2007**, accepté

#### **BREVET**

«*Use of 1,4-bis(3-aminopropyl)piperazine derivatives in therapy*»  
Melnyk, P.; Sergeant, N.; Buée, L.; Delacourte, A.  
*Brevet international WO 2006 051489*

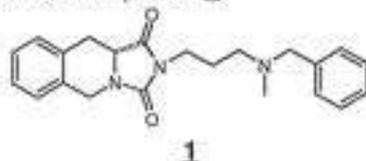
## Synthesis of a new selective $\sigma_1$ receptor agonist, the Tic-hydantoine derivative **1**, and validation as a putative anti-cocaine agent

Marion Toussaint,<sup>a</sup> Brice Delair,<sup>b</sup> Tanguy Maurice,<sup>b</sup> Patricia Melnyk<sup>a</sup>

<sup>a</sup> UMR CNRS 8161 - Universités de Lille I & II - Institut Pasteur de Lille  
1 rue du Pr Calmette, B.P. 447, 59021 Lille cedex, France  
<sup>b</sup> INSERM U 710, EPHE, Université de Montpellier II  
cc 105, place E. Bataillon, 34095 Montpellier cedex 5, France

Substituted hydantoins have been widely used in biological screenings resulting in numerous pharmaceutical applications. Our strategy was to design a new series of more constrained derivatives. Indeed, the privileged structure, tetrahydroisoquinoline (Tic), was selected as a pharmacophoric moiety and mixed compounds showed nanomolar affinity for  $\sigma_1$  receptor<sup>1,2</sup>. Activation of this receptor has been shown to be involved in the psychostimulant and appetitive effects of cocaine.

As previous results showed the importance of the stereochemistry of the Tic core and the role of amino side chain, we designed and synthesized compound **1**.



The effects of **1** were therefore tested on: (i) the cocaine (10 mg/kg)-induced locomotor stimulation and sensitization; and (ii) acquisition and reactivation of cocaine (10, 30 mg/kg)-induced conditioned place preference (CPP), in mice<sup>3</sup>. The compound failed to modify the locomotor behavior by itself, but potentiated, in the 0.3-10 mg/kg ip dose-range, the cocaine-induced hyperlocomotor response after acute injection. Pre-administered before cocaine during 4 days, it significantly increased the short-term sensitization, at 1 and 3 mg/kg. Moreover, the response to cocaine-induced priming injection, 4 days after withdrawal, was significantly increased in **1** (1 mg/kg)-treated animals, showing a potentiation of long-term sensitization. The compound also potentiated acquisition of cocaine-induced CPP at 1 and 3 mg/kg, without having an effect by itself. Moreover, when mice were conditioned with cocaine (30 mg/kg) and then extinguished with saline, **1** at 1 and 3 mg/kg allowed the reactivation of cocaine-induced CPP. The drug therefore presents a typical  $\sigma_1$  receptor agonist profile, facilitating cocaine-induced behavioral effects and generalizing with the drug-induced state. It may be developed as a potent new agonist therapy.

<sup>1</sup> Charton, J. et al *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 4833.

<sup>2</sup> Cazenave Gassiot, A. et al *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 4828.

<sup>3</sup> Romieu, P. et al. *Neuroreport.* 2000, 11, 2885-8.

## Club Nanomatériaux pour les Sciences du Vivant

### MODIFICATION CHIMIQUE MINIMALE D'UN DEXTRAN ET SON INCORPORATION DANS DES NANOCAPSULES LIPIDIQUES

Antoine RICHARD\*, Nicole DUPONT\*, Alexandre BARRAS\*, Amena BEN YOUNES<sup>‡</sup>,  
Patricia MELNYK\*

\*UMR 8161 CNRS-Universités de Lille 1 et 2-Institut Pasteur de Lille,  
équipe de Chimie et MicroNanotechnologie à Visée Thérapeutique

<sup>‡</sup>INSERM IFR 142 Institut Pasteur de Lille-Institut de Biologie de Lille,  
1 Rue du Pr Calmette, 59021 Lille cedex

L'utilisation de liposomes ou nanoparticules dans le but de vectoriser des principes actifs mobilise de nombreux chercheurs. Un des axes de recherche consiste à mettre au point des systèmes particuliers ayant une durée de vie prolongée dans la circulation sanguine. Pour cela, les nanoparticules sont recouvertes de polymères hydrophiles, le plus couramment utilisé est le polyéthylène glycol de masse moyenne 2000 ou 5000 Da.

Notre choix s'est porté sur l'utilisation d'un polysaccharide de masse 40 kDa. L'incorporation de ce polymère saccharidique à la surface de nanocapsules lipidiques a été possible grâce à une dérivatisation de ce sucre par une chaîne grasse en C16 sur son extrémité réductrice. L'utilisation de l'extrémité réductrice du polysaccharide permet de contrôler la dérivatisation chimique du polymère tant d'un point de vue spatial que vis-à-vis du nombre de chaînes grasses introduites.

L'incorporation d'une seule chaîne en C16 sur le dextran lui permet de s'insérer à la surface des nanocapsules lipidiques. Cela a pu être mesuré par diffusion dynamique de la lumière mais aussi confirmé par RMN et observé par microscopie électronique à transmission en coloration négative.

Cette "lipidation" terminale du dextran permet donc de fonctionnaliser des colloïdes lipidiques en laissant toute la longueur du polysaccharide disponible pour assurer des fonctions de furtivité ou encore de présentation de motif de reconnaissance moléculaire afin d'effectuer un ciblage cellulaire.

**LABORATOIRE DE CHIMIE MARINE**  
Groupe SMAB, EA 2160 - Pôle Mer et Littoral  
2, rue de la Houssinière 44322 Nantes Cedex 3  
Tél. 02 51 12 56 89 et 87 Fax 02 51 12 56 79

**SERVICE DE CHIMIE GENERALE ET MINERALE**  
**Département de Chimie générale, minérale et analytique**  
Faculté de Pharmacie, BP 53508, 1 rue Gaston Veil 44035 Nantes Cedex 1  
Tél. 02 40 41 26 51 et 26 02 Fax. 02 40 41 28 58

Courriels : [Gilles.Barnathan@univ-nantes.fr](mailto:Gilles.Barnathan@univ-nantes.fr) [Wielgosz-Collin@univ-nantes.fr](mailto:Wielgosz-Collin@univ-nantes.fr)

Groupe Substances marines à activité biologique (SMAB) reconduit en déc. 2003  
En cours : regroupement d'équipes (Pharmacie et Sciences) pour labellisation CNRS 2008-2011

**Enseignants-Chercheurs :**

Gilles BARNATHAN, Pr.

Jean-Michel KORNPROBST, Pr. Emérite Gaëtane WIELGOSZ-COLLIN, MCU

Dr. Justine DUMAY, ATER en 2006-2007

**Technicienne**

Mme Vony Rabesaotra

**Doctorants:**

Nicolas Ruiz (50% GB, 21.06.07), Justine Dumay (Ifremer, 33% GB, 17.10.06),

Flore Dagorn (50% GB, début 10.07)

**Thématiques de recherche**

Glycolipides des invertébrés marins à visée antitumorale et antiparasitaire.

Lipides et métabolites lipophiles d'intérêt en santé, nutrition, aquaculture, cosmétologie, des algues, microalgues, micromycètes, invertébrés marins (phospholipides, acides gras, stérols).

Identification de molécules rares ou originales (activité biologique et pharmacologique, biomarqueurs chimiotaxonomiques, biosynthétiques, nutraceutique).

**Réseaux, programmes européens, nationaux, régionaux**

- Réseau VALBIOMAR (« Valorisation biotechnologique des ressources marines ») d'initiative communautaire INTERREG III B Arc atlantique
- G.D.R. SEA<sup>PRO</sup> « Valorisation biotechnologique des co-produits de la pêche et de l'aquaculture » (Coord. J.P. Bergé, IFREMER, Nantes)
- Groupe d'Etude et de Recherche en Lipidomique (GERLI), Société Française de Biochimie
- Cancéropôle Grand-Ouest (Dir. K.Meflah, INSERM Nantes), Axe « Valorisation des produits de la mer en cancérologie » (Dir. P.Bougnoux Tours), Projet « Glycoconjugués » (volet « Glycolipides »)
- Contrat SMIDAP 2007 : « recherche de produits valorisables chez la crépidule pouvant justifier l'éradication de ce mollusque compétiteur de l'huître »
- Projet régional, demande 2007 : « Mer, molécule, santé », projet structurant regroupant des équipes des universités de la Région des Pays de la Loire
- Projet GERRICO entre l'université de Nantes et l'Ifremer sur la valorisation des zones côtières

### Collaborations locales

- \* Faculté des Sciences (LSO, CNRS UMR 6513, Equipe synthèse glycolipides, Pr. D. Dubreuil).
- \* Laboratoire de Biochimie pharmaceutique EA (Pr. J.M. Bard, Dr. H. Nazih).
- \* IFREMER, Centre de Nantes, Dpt Sciences et Techniques Alimentaires Marines (Dr. J.P. Bergé).
- \* EA Ecophysiologie marine intégrée, Pôle Mer et Littoral, Université de Nantes (Pr. J. Fleurence).
- \* Industries : ALPHA-BIOTECH (Assérac, 44), INNOVALG (Bouin, 85).

### Collaborations nationales

- \* Endoume, Station Marine, Centre Océanologique de Marseille (Drs. N. Boury-Esnault, J.Vacelet).
- \* Marseille, Equipe Phytochimie, UMR CNRS 6171, Pr. E.M. Gaydou).
- \* Paris (Muséum National d'Histoire Naturelle, Pr. P. Grellier).
- \* Université de La Réunion, Saint-Denis (Pr. M. Aknin).

### Collaborations internationales

- \* Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal.
- \* University of Qatar, Doha, Faculty of Science, Dpt. of Chemistry & Dpt. of Marine Sciences,
- \* Faculty of Marine Sciences, King Abdulaziz University, Jeddah, Arabie Saoudite.

### Activités d'Enseignement

- \* Cours de Chimie-Physique Générale, 1<sup>ère</sup> année (26h)
- \* Enseignements Dirigés de Chimie Générale, 1<sup>ère</sup> année (12 x 1,5h)
- \* Cours de Chimie Minérale, 2<sup>ème</sup> année (15 h), ED (24h)
- \* Travaux Pratiques de Chimie Physique et Minérale (81h)
- \* Stages d'Initiation à la Recherche (2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> années) (75h)
  
- \* Master M2 Recherche : Mécanismes et Optimisation de la Production Marine (CM 4h, ED 2h)
- \* Masters M2 Professionnels
  - Développement et Contrôle des Produits de Santé, Option Aliments Santé (CM 8h, ED, TP)
  - Bioprocédés et Biotechnologies Marines, St Nazaire (CM 4h).
  - Gestion Intégrée du Littoral et des Zones Côtières, St Nazaire (CM 4h)
  
- \* Licence Professionnelle de Cosmétologie, CM et ED (26h)

### Expertises, organisation de réunions scientifiques

- \* Expertises de manuscrits 2005-2007 : *Lipids, Chemistry and Physics of Lipids, Botanica Marina, Comparative Biochem. Physiol., J. Nat. Products, Eur.J. Lipid Sc. Technol., Marine Biol., J. Agricultural Food Chem.*
  
- \* Session biotechnologique VALBIOMAR, Nantes, 07.09.06, « Valorisation biotechnologique des substances hydrophiles et lipophiles des algues en santé, nutrition, cosmétologie », savoirs et savoir-faire universitaires à usage des industriels.

## PUBLICATIONS, COMMUNICATIONS, CONFERENCES 2005 - 2007

## Publications

1. Rasoarahona J.R.E., Barnathan G., Bianchini J.P., Gaydou E.M. (2005) Influence of season on the lipid and fatty acid profiles of three Tilapia species (*Oreochromis niloticus*, *O. macrochir* and *O. rendalli*) from Madagascar. *Food Chem.* 91 : 683-694.
2. Dumay J., Donnay-Moreno C., Barnathan G., Jaouen P., Bergé J.P. (2006) Improvement of phospholipid extraction from sardine (*Sardina pilchardus*) heads by means of hydrolysis with industrial proteases. *Process Biochem.* 41: 2327-2332.
3. Ould El Kebir M.V., Barnathan G., Siau Y., Mirallès J., Gaydou E.M. (2007) Fatty acids in liver, muscle and gonad of three tropical Rays including five non-methylene-interrupted dienoic fatty acids. *Lipids*, 11p., sous presse.
4. J.M. Kornprobst et G. Barnathan (2006) Lipides membranaires atypiques de quelques organismes marins. *Chimie Nouvelle*, Louvain, Belgique, sous presse.
5. Ruiz N., Dubois N., Wielgosz-Collin G., Robiou du Pont T., Bergé J.P., Pouchus Y.F., Barnathan G. (2006) Lipid content and fatty acid composition of a marine-derived *Trichoderma longibrachiatum* strain cultured by agar surface and submerged fermentations. *Process Biochem.*, in press, disponible en ligne, 29 sept.
6. Barnathan G. (2007) Sources actuelles et à venir de DHA. In : Cahier spécial « DHA pour les besoins de l'homme », *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, sous presse.
7. Ruiz N., Wielgosz-Collin G., Grovel O., Petit K.E., Mohamed-Benkada M., Robiou du Pont T., Bisset J., Barnathan G., Pouchus Y.F. New trichobrachins, 11 residues peptaibols from a marine strain of *Trichoderma longibrachiatum*. Relation hydrophobicity / cytotoxicity, *Peptides*, soumis, 2007.

## Chapitre dans un ouvrage

Bergé J.P., Barnathan G. (2005) Recent advances in fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically-active compounds and economical aspects Review in "Marine Biotechnology", Eds: Y. Le Gal & R. Ulber, Series "Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology", Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 96 : 49-125.

## Communications internationales

1. Dumay J., Lheriau A., Barnathan G., Jaouen P., Bergé J.P. (2005) What could be the benefit of using enzyme for extracting lipids from fatty fish by-products, 35<sup>th</sup> WEFTA Meeting, Anvers, Belgique (O)
- 2-5. 4<sup>th</sup> Eur. Symposium on Marine Natural Products, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, sept. 2005
  - Velosaotsy N.E., G.Wielgosz-Collin, S.Al-Lihaibi, C.Débitus, J.F.Biard, J.Vacelet, J.M. Kornprobst, G.Barnathan. New branched fatty acids in phospholipids of some marine sponges (A)
  - Velosaotsy N.E., S. Al-Lihaibi, G. Wielgosz-Collin, J.F. Biard, J. Vacelet, J.M. Kornprobst, G. Barnathan. A-Nor-sterols in the marine sponges *Stylissa carteri* and *Aaptos papillata* (A)
  - Bretéché A., A.Robic, C.Denis, S.Maillard, N.Boury-Esnault, J.Vacelet, C.Débitus, J.N.A. Hooper, G.Wielgosz-Collin, J.M. Kornprobst, G.Barnathan. Antitumor glycolipids from some marine sponges (A)
  - Ruiz N., O.Grovel, G.Barnathan, Y.F.Pouchus., Identification of new peptaibols from the marine fungi *Trichoderma*. (O)
6. Dumay J., LHERIAU A., BARNATHAN G., JAOUEN P., BERGE J.P. (2005) What could be the benefit of using enzyme for extracting lipids from fatty fish by-products. 35th WEFTA Meeting (European Fish Technologists Association), Anvers, 19-22 sept.

7. Ruiz N., Honoré A., Dubois N., Wielgosz-Collin G., Pouchus Y.F., Barnathan G. (2006) Fatty acid composition of *Gliocladium* sp., a microfungus isolated from marine sediments 3<sup>ème</sup> Congrès de Lipidomique – Groupe d'Etude et de Recherche en Lipidomique GERLI, Europ. Fed. Lipids, 10-12 Mai, Marseille (A)
8. Genin E., Gouygou J.P., Njinkoué J.M., Kornprobst J.M., Wielgosz-Collin G., Barnathan G. (2006) A preliminary survey of the phospholipid composition of marine sponges by HPTLC scanning densitometry. 3<sup>ème</sup> Congrès de Lipidomique – Groupe d'Etude et de Recherche en Lipidomique GERLI, Eur. Fed. Lipids, 10-12 Mai, Marseille (A)
9. Dumay J., Barnathan G., P. Jaouen, J.P. Bergé (2006) Mild procedure for obtaining lipid and peptidic fraction from sardine (*Sardina pilchardus*) heads. 2nd Joint Trans-Atlantic Fisheries Technology TAFT Conference, Quebec-City, 29 oct.-1er nov.
10. Ruiz N., Dubois N., Wielgosz-Collin G., Pouchus Y.F., Barnathan G. (2006) Détection d'acides gras conjugués chez des micromycètes marins par couplage chromatographie en phase gazeuse/ spectrométrie de masse. 23<sup>ème</sup> Journées Françaises de Spectrométrie de masse, 11-14 septembre, Nantes (A)

#### CONFÉRENCES

- 1,2. Barnathan G. "Les algues, source de molécules d'intérêt : les lipides, les protéines, leurs méthodes d'obtention et de caractérisation – Applications en nutrition, santé, cosmétique et aquaculture", Nantes, Pôle Mer et Littoral, 7 septembre 2006.
  - *Substances marines lipidiques et lipophiles d'intérêt en santé, nutrition, cosmétologie, aquaculture*
  - *Méthodes d'extraction, de purification et de caractérisation de molécules actives, en particulier acides gras, des stéroïls, des vitamines de microalgues cultivées*
3. Barnathan G. *Isolation and characterization of lipids and lipophilic substances of interest in the field of health, nutrition, aquaculture and cosmetics, from a marine biomass*, IV Seminario Valbiomar, "Moléculas de interés a partir de algas, invertebrados y microorganismos marinos" Vigo, Espagne, Centre Tecnológico del Mar, CETMAR, 19-20 octobre 2006.
4. Barnathan G. *Les substances lipophiles d'intérêt du monde marin*. Réunion de l'Association Cosmétiques-Méditerranée, 1<sup>ères</sup> Rencontres Scientifiques COSMED-Ouest, Nantes, Faculté de Pharmacie, 26 octobre 2006.
5. Barnathan G. *Sources connues et potentielles de DHA pour l'alimentation de l'Homme*. Journée annuelle du Groupe Lipides et Nutrition, "Le DHA, acide gras oméga-3 majeur du cerveau : actualités et perspectives", Faculté de Médecine, Paris, 7 novembre 2006.

**Composition originale des principaux lipides membranaires  
de l'éponge méditerranéenne *Aaptos papillatus***

G. Wielgosz-Collin, N.E. Velosaotsy, J.M. Kornprobst, G. Barnathan

Groupe SMAB, EA 2160, Laboratoire de Chimie marine  
Pôle Mer et Littoral, Université de Nantes,  
Faculté de Pharmacie, 1 rue G. Veil – BP 53508, Nantes, F-44000 France

Poursuivant nos investigations sur les constituants des membranes cellulaires des éponges marines, notre intérêt s'est porté sur *Aaptos papillatus* du littoral méditerranéen au large de Montpellier.

Les lipides totaux sont obtenus au moyen d'extraction par des mélanges dichlorométhane-méthanol et séparés en grandes classes par chromatographie sur colonne de gel de silice : les stérols libres sont isolés dans des fractions dichlorométhaniques, les phospholipides dans les fractions méthanoliques finales. Le couplage chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse est utilisé pour l'analyse et l'identification des stérols (libres et acétates) et pour l'analyse des acides gras des phospholipides (esters méthyliques et *N*-acyl pyrrolidides).

Une vingtaine d'acides gras ont été identifiés et les acides démospongiques insaturés  $\Delta 5,9$  typiques des éponges sont présents à plus de 80% du total, et incluant le fréquent acide 5,9-hexacosadiénoïque (28%) et l'inhabituel acide 5,9,19-octacosatriénoïque (43%).

Cette éponge possède une composition stérolique atypique : douze stérols dont le cholestanol (45%) et, de façon inattendue 3 *Nor-A* stérols jamais rencontrés dans ce genre d'éponges.

1. Thèse de doctorat de N.E.Velosaotsy, Nantes, mai 2005.
2. G. Barnathan *et al.* (2003) *Comparative Biochem. Physiol.* 135B : 297-308.
3. N.E. Velosaotsy *et al.* (2004) *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova* 68 : 639-645.

## Amélioration de l'extraction des lipides de co-produits de poisson à l'aide de protéases

J. Dumay<sup>1,2</sup>, J.P. Bergé<sup>1</sup>, P. Jaouen<sup>3</sup>, G. Barnathan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>STAM - IFREMER, Nantes Atlantique Université, France

<sup>2</sup>SMAB - Faculté de Pharmacie, Nantes Atlantique Université, France

<sup>3</sup>GEPEA - UMR CNRS 61-44, Nantes Atlantique Université

Les effets bénéfiques sur la santé de la consommation d'aliments d'origine marine en général, ou des huiles marines, en particulier sont avérés. Les co-produits de poissons constituent des sources de composés valorisables. En effet, les lipides peuvent être obtenus par consommation des co-produits de poisson entiers (foies, œufs) ou par extraction des huiles. Les techniques actuelles d'obtention des huiles de poissons font intervenir des procédés chimiques, thermiques ou mécaniques, pouvant induire la dénaturation de certains composés (oxydation, saturation...). Cette étude porte ainsi sur la recherche de techniques douces pour extraire les composés lipidiques d'intérêt, tels que les phospholipides ou les acides gras poly-insaturés. Les co-produits de poissons sont alors soumis à des traitements protéolytiques. Par ce biais, en fonction des co-produits utilisés, les rendements d'extractions peuvent augmenter de 20% par rapport à une extraction chimique classique (méthode de Folch et al.). Cette technique permet également de conserver les teneurs en phospholipides et en acides gras obtenues classiquement.

**UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES – PARIS 5**

**FACULTÉ DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES**

**EQUIPE D'ACCUEIL EA 4066  
LABORATOIRE DE CHIMIE PHYSIQUE ET CHIMIE MINÉRALE**

**4 avenue de l'Observatoire - 75270 PARIS Cedex 06**

**Tél. & fax : 33.(0)1.53.73.96.68**

*rene.ceolin@univ-paris5.fr  
jerome.dugue@univ-paris5.fr*

**PERSONNEL**

Professeurs : René Céolin\*, Jérôme Dugué  
Maîtres de conférences : Elizabeth Barthélemy, Claude Carcaly, Philippe Espeau\*, Nathalie Mahé\*, Béatrice Nicolai\*, Sven Thorén,  
(\*membres des l'équipe d'accueil)

**ENSEIGNEMENT**

**Pharmacie**

1<sup>re</sup> année : cours et enseignement dirigé de chimie physique générale  
2<sup>e</sup> année : cours, enseignement dirigé et travaux pratiques de chimie générale et minérale  
3<sup>e</sup> année : ED intégré «De la matière première au médicament »

**LMD**

L2 : méthodes thermiques d'analyse  
M2 : l'état solide des médicaments

**RECHERCHE**

Le site de l'équipe d'accueil, créée par la DS4 au 1/01/06, est accessible et consultable par  
> <http://www.pharmacie.univ-paris5.fr/PFM4066/>

---

**CONGRUENTLY-MELTING MOLECULAR HYDRATES : DEPENDENCE of the DSC THERMAL BEHAVIOR of 1,10-PHENANTHROLINE . H<sub>2</sub>O MONOHYDRATE on the IN-PAN « DEAD VOLUME » and on THE PRESSURE (NO DEAD VOLUME).**

R. Céolin<sup>1,2</sup>, J.-Ll. Tamarit<sup>2</sup>, P. Espeau<sup>1</sup>, B. Nicolai<sup>1</sup>, M. Barrio<sup>2</sup>, D. Ó. Lopez<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Physique, EA4066, Faculté de Pharmacie, 4 av. de l'observatoire, 75006 Paris.

<sup>2</sup> Laboratori de Caracterizació de Materials, Departament de Física i Enginyeria Nuclear, ETSEIB, Diagonal 647, 08028 Barcelona, Catalunya (Spain)

## 1. Introduction

Molecular hydrates usually melt incongruently.

However when samples for DSC are closed in sealed pans, the corresponding binary phase diagram shows that hydrates can melt congruently, as already exemplified by the case of the sulfaguanidine -H<sub>2</sub>O monohydrate [1].

The 1,10-phenanthroline (Phen)-H<sub>2</sub>O system reveals a case of congruently melting hydrate. However the shape of the DSC curves depends on the in-pan "dead" volume, *i.e.* on the  $V/m$  ratio between the inner volume  $V$  of the pan and the mass  $m$  of the sample. Congruency of the fusion is confirmed by DTA studies as a function of the pressure (*i.e.* when no dead volume is allowed).

## 2. Experimental results

A nearly isochoric T-x diagram is shown in Fig. 1.

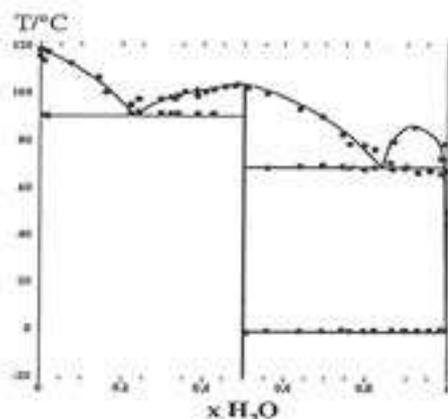


Figure 1: Phen-H<sub>2</sub>O nearly isochoric T-x diagram ( $6 < V/m \text{ (cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}) < 9$ ).

When the DSC behavior of Phen.H<sub>2</sub>O is studied as a function of  $V/m$  two kinds of peaks are recorded. Liquidus-type and invariant-type peaks are shown in Figure 2.

## References

- [1] J.C. Rouland, S.A. Thorén, J.L. Fournival, R. Céolin. *J. Thermal Analysis*, 44, 1995, 1417-1437

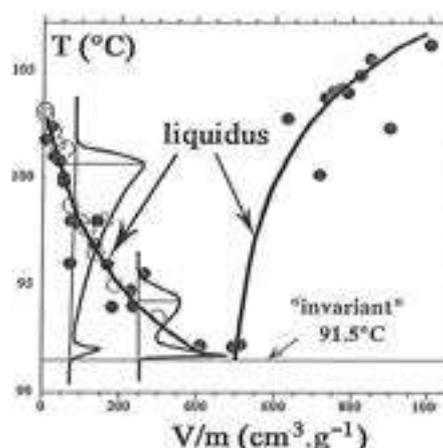


Figure 2: DSC curves from phen.H<sub>2</sub>O in sealed pans as a function of  $V/m$ .

The melting curve of phen.H<sub>2</sub>O is shown in Figure 3. The  $dP/dT$  slope is positive (about 7.5 MPa.K<sup>-1</sup>), thus showing that the hydrate expands on melting congruently under pressure.

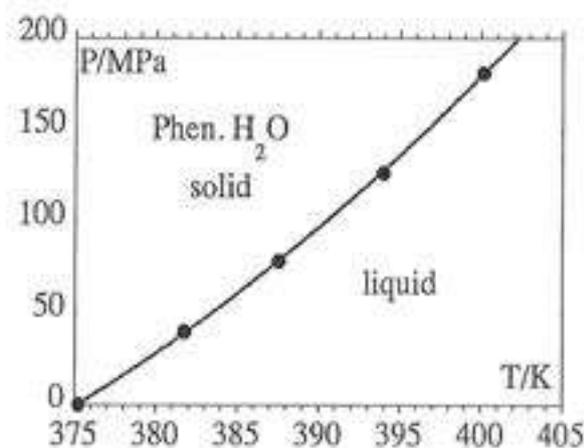


Figure 3: Melting curve of hydrate phen.H<sub>2</sub>O

## OVERALL MONOTROPIC BEHAVIOR of a METASTABLE PHASE of BICLOTYMOLO, 2,2'-Methylenebis(4-Chloro-3-Methyl-Isopropylphenol), INFERRED from EXPERIMENTAL and TOPOLOGICAL CONSTRUCTION of the RELATED P-T STATE DIAGRAM.

R. Cœlin,<sup>1,2</sup> J.-L. Tamarit,<sup>1</sup> M. Barrio,<sup>1</sup> D. Ó. Lopez,<sup>1</sup> B. Nicolai,<sup>2</sup> M.-A. Perrin,<sup>2</sup> P. Espeau<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratori de Caracterizació de Materials, Departament de Física i Enginyeria Nuclear, ETSEIB, Diagonal 647, 08028 Barcelona, Catalunya (Spain)

<sup>2</sup> Laboratoire de Chimie Physique, EA4066, Faculté de Pharmacie, 4 av. de l'observatoire, F-75006 Paris.

### 3. Introduction

*P-T* diagrams are seldom used to question the thermal behaviour of polymorphs since their stability relationships are addressed "at ordinary pressure". Bakhuis Roozeboom [1] presented 4 possible cases of *P-T* diagrams for dimorphism, and the fourth case showed that a polymorph could exhibit no stable phase region (*i.e.* an overall monotropic behaviour).

A new phase (II) of biclotymol, a pulmonary antiseptic, was found to recrystallize upon heating the glass or the melt in addition to the usual monoclinic Phase I [2]. As shown in the following, it was inferred that Phase II has no stable phase region, thus exemplifying the 4th case of Bakhuis Roozeboom.

### 4. Experimental results

HP-DTA runs on biclotymol Phases I and II were performed using a high pressure differential thermal analyzer (HP-DTA) similar to the analyzer built by Würflinger [3].

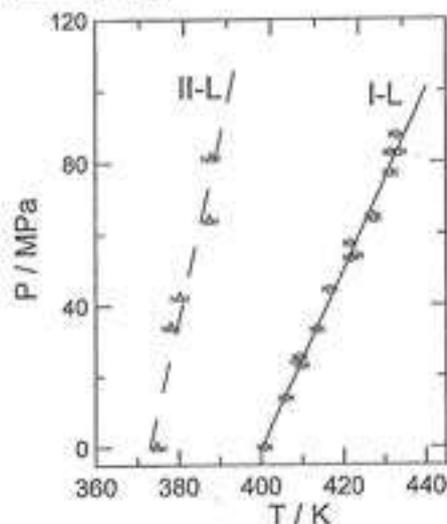


Figure 1: HP-DTA melting peaks of Phase I and Phase II of biclotymol.

The curves in Figure 1 show that the melting temperatures of both forms increase with increasing pressure, but  $T(\text{II-L})$  steeper than  $T(\text{I-L})$ . This results in a metastable cross-over (triple point I-II-L) at "negative" pressure, through which the I-II equilibrium should pass.

From DSC and specific volumes measurements at "ordinary pressure", it was found that:

i/ , ii/ and iii/. The topological *P-T* diagram in Figure 2 was thus drawn.

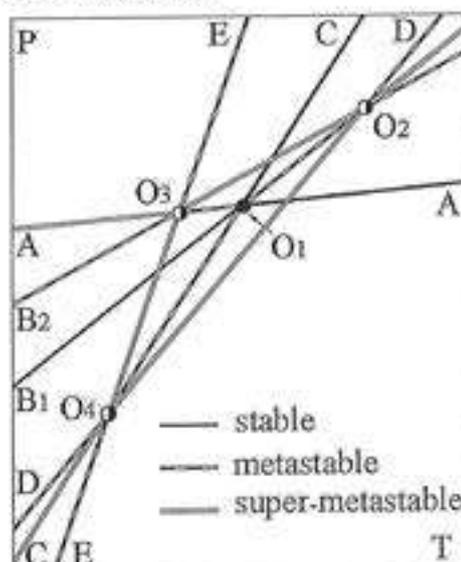


Figure 2: Experimental *P-T* state diagram of biclotymol. O1=I-L-V, O2=I-II-V, O3=II-L-V, O4=I-II-L. AA=L-V, B1=I-V, B2=II-V, DD=I-L, EE=II-L, CC=I-II

It can be seen that the sublimation curves B1 and B2 do cross in the region where the liquid is the stable phase.

### References

- [1] H.W. Bakhuis Roozeboom HW. 1901. Die heterogenen Gleichgewichte vom Standpunkte der Phasenlehre. Erstes Heft : Die Phasenlehre - Systeme aus einer Komponente. Vieweg, Braunschweig, Germany. 1901. p. 183-189.
- [2] S. Rantsordas, M. Perrin, A. Thozet. Acta Cryst. B34 (1978) 1198-1203.
- [3] A. Würflinger. Ber. Bunsenges Phys. Chem. 79 (1975) 1195-1201.

# CRYSTALLOGRAPHIC and CALORIMETRIC STUDIES of SOME SOLVATES of BICLOTYMOL, 2,2'-Methylenebis(4-Chloro-3-Methyl-6-Isopropylphenol).

N. Mahé, B. Nicolai, P. Espeau, R. Céolin

Laboratoire de Chimie Physique, EA4066, Faculté de Pharmacie, 4 av. de l'observatoire, F-75006 Paris.

## 5. Introduction

A new phase (Phase II) of biclotymol, a diphenylmethane derivative used as a pulmonary antiseptic, was found to recrystallize upon heating the glass or the melt, in addition to the usual monoclinic Phase I [1]. To try and crystallize this new phase, evaporations of solutions in solvents with different polarities were performed, and a number of solvates was observed. Some of them remained enough persistent in air, and their crystal structures were solved for characterization purpose.

## 6. Experimental results

Solvents used and solids obtained are compiled in Table 1.

SOLVENT	SOLID
acetone	solvate
ethyl acetate	Polymorph ?
isopropyl acetate	Phase I
butanol-1	solvate
chloroform	Phase I
cyclohexane	Phase I
cyclohexanone	amorphous
ethanol	solvate
ether	solvate
n-hexane	Phase I
nitromethane	Phase I
methanol	Phase I
toluene	Phase I
dimethylsulfoxide	solvate (SA)
dimethylformamide	solvate (SA)

Table 1: Crystals obtained by evaporating biclotymol solutions in various solvents. SA=stable in air.

All solvates were characterized by their X-ray patterns recorded from in-capillary mixtures with their mother liquors. Solvent-free samples from ethyl acetate solution exhibited a new X-ray pattern still to be indexed and ascribed to a polymorph whose thermal behaviour remains to be investigated.

Details of the packing in biclotymol DMF and DMSO 1:1 solvates are shown in Figures 1 and 2.

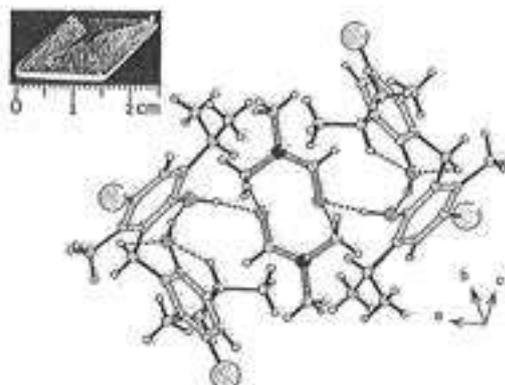


Figure 1: Crystal of biclotymol-DMF triclinic ( $P-1$ ) solvate and hydrogen-bonded structural motif.

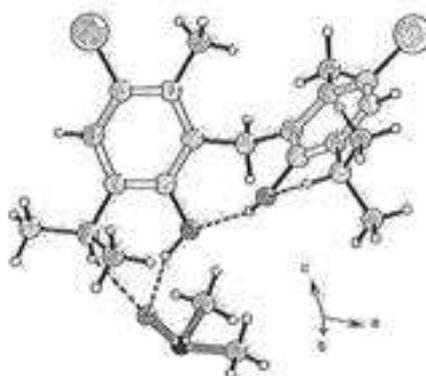


Figure 2: Hydrogen-bonded structural motif in biclotymol-DMSO monoclinic ( $P2_1/c$ ) solvate.

Conformations different from that in biclotymol Phase I are found in these two solvates whose stoichiometry was confirmed by means of thermogravimetry.

Preliminary DSC runs in closed and open pans showed that: i/ the DMF solvate melts incongruently at about  $80^\circ\text{C}$ , and ii/ the desolvation-related effect ( $\approx 87^\circ\text{C}$ ) for the DMSO solvate is preceded by an endo-exothermic sequence at  $82^\circ\text{C}$  (onset) reminiscent of a stabilization process that has still to be explained.

B. Legendre

Châtenay-Malabry

### Volet Enseignement

La nouveauté à Châtenay-Malabry est le passage du cours de Chimie Minérale de 2<sup>e</sup> année en 1<sup>ere</sup> année.

C'est à mon avis une erreur, mais notre doyen n'a pas voulu m'écouter...

En ce qui concerne les enseignements optionnels :

Nous sommes la cheville ouvrière d'un enseignement coordonné sur le polymorphisme qui s'adresse aux étudiants de 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> année. Cette option comprend une partie théorique en thermodynamique et en cristallographie ainsi qu'une partie de galénique. La chimie organique est impliquée dans les synthèses de composés sous forme stables et métastables.

Les étudiants sont ensuite initiés aux méthodes suivantes :  
Thermo-microscopie, DSC, ATG, RX.

Dans l'ensemble cet enseignement est bien apprécié. Pour cette année, nous avons eu 60 étudiants.

### Volet Recherche

1) Nous sommes dans la dernière étape du COST 531 (lead free solders= les alliages sans plomb). Notre apport personnel sur 4 ans, a été la réalisation de 2 ternaires Ag-Au-Bi et Ag-Au-Sb. Détermination des températures de liquidus et des invariants. Présentation des coupes isoplèthes et isothermes.

Ces résultats ont permis de réaliser une optimisation des fonctions enthalpie libre des phases dans les binaires Au-Bi et Ag-Sb et de modifier ainsi les bases de données existantes.

Une optimisation complète des deux ternaires a été publiée et complète ainsi les bases de données.

En fin avril 2007, je fais la synthèse en tant que responsable de la coordination du groupe de travail N°1 pour l'ensemble des travaux relatifs aux binaires et ternaires des 11 éléments sélectionnés. Vingt cinq pays ont participé à ce travail. A la fin du mois de mai 2007, le rapport définitif sera rédigé.

2) Dans le domaine du polymorphisme des composés d'intérêt pharmaceutique, nous venons de terminer en collaboration avec S. Ranzio de l'Académie des Sciences de Varsovie, un travail sur la mise en évidence d'une forme haute température de la théophylline. Nous devons terminer aussi un travail sur les transitions de phases de la caféine, cette étude a été réalisée entre 20°C et 250°C avec des variations de pression allant de 0.1MPa à 300MPa, en outre nous avons travaillé sur une forme obtenue par sublimation sous un vide de  $10^{-3}$  Pa. Cette forme mise en solution présente un comportement pharmacologique différent de la forme II. Ceci a fait l'objet d'un brevet.



Laboratoire de Chimie générale et minérale  
 ADEN UPRES EA 3234  
 Faculté de Médecine-Pharmacie  
 22 Bd Gambetta  
 76183 Rouen cedex 03  
 Tél : 02 35 14 85 84  
 cecile.barbot@univ-rouen.fr



Maître de conférences : Cécile Barbot (39<sup>ème</sup> section)  
 ATER (demi-poste) : Lazare N'GABONI OKASSA (39<sup>ème</sup> section)

### I. Activités d'enseignement

#### 1ère année de pharmacie

-cours de chimie générale	36h de cours	54h éq. ED
-cours de chimie minérale	20h de cours	30h éq. ED
-ED de chimie générale		90h ED
-ED de chimie minérale		60h ED

#### 2<sup>ème</sup> année de pharmacie

-TP de chimie minérale	105h de TP	70h éq. ED
------------------------	------------	------------

#### 4<sup>ème</sup> année de pharmacie

-TP coordonnés (analyse structurale par RX)	12h de TP	8h éq. ED
--	-----------	-----------

Soit un total de 312h éq. ED d'enseignement.

### II. Activités de recherche : présentation du groupe ADEN EA 3234

Groupe Appareil Digestif Environnement et Nutrition : groupe de recherche hospitalo-universitaire. Ce groupe rassemble 26 enseignants-chercheurs et environ 25 médecins-scientifiques, doctorants et post-doctorants actifs sur les laboratoires de la faculté de Médecine-Pharmacie.

La thématique générale porte sur la réponse du tube digestif à son environnement, et en particulier, à l'alimentation. L'approche est à la fois expérimentale et clinique, du point de vue physiologie et pathologie (inflammation intestinale, troubles fonctionnels digestifs, troubles du comportement alimentaire). L'activité de recherche du groupe est orientée vers l'amélioration de la prise en charge des pathologies digestives et nutritionnelles et vers le champ Nutrition et Santé. L'équipe s'oriente sur la compréhension des relations cerveau-intestin.

**Le laboratoire de chimie générale et minérale** contribue aux travaux menés par l'équipe pharmaconutrition & galénique (sous la direction du Pr Pierre Déchelotte) qui a pour objectif principal la validation de concepts innovants en nutrition clinique, fortement orientés sur le métabolisme intestinal et le comportement alimentaire.

La seconde équipe du groupe ADEN, équipe de physiologie digestive (sous la direction du Pr Ducrotté) aborde la réponse motrice et sensitive du tube digestif à l'aide d'une vaste plate-forme d'explorations fonctionnelles.

### III. Thématique du laboratoire de chimie générale et minérale

Le laboratoire de chimie générale et minérale travaille en partenariat avec le laboratoire de pharmacie galénique et biopharmacie de la Faculté de Médecine-Pharmacie de Rouen.

La recherche est actuellement axée sur le développement de vecteurs pharmaceutiques visant à améliorer la biodisponibilité de principes actifs dirigés vers la voie digestive. En particulier, les cyclodextrines, modifiées ou non, sous forme de nanosphères, microsphères, nanocapsules et microcapsules, sont largement utilisées comme agents complexants, pour l'amélioration de la solubilité des molécules d'intérêt pharmaceutique ou de leurs propriétés organoleptiques.

Les études menées par le laboratoire de chimie générale et minérale consistent à optimiser des préparations galéniques et à réaliser des caractérisations physico-chimiques en cours et après mise en forme des principes actifs.

Des méthodes statistiques sont actuellement développées. Elles reposent sur l'utilisation des plans d'expériences. Ces techniques permettent de minimiser le nombre de préparations et de prévoir l'influence de plusieurs facteurs (quantité d'agent vectorisant, quantité de polymère, vitesse d'agitation...) sur la réponse attendue (quantité de principe actif incorporé, vitesse de dissolution...).

Dans un premier temps, les plans de criblage permettent d'obtenir une information sur les facteurs influents. Dans un second temps, des plans pour surfaces de réponse, permettent de modéliser et de prévoir les réponses suivant les paramètres des facteurs utilisés lors de la préparation galénique.

Actuellement, nous optimisons la préparation de microsphères de cyclodextrines, utilisées comme vecteur de principes actifs par la méthode des plans d'expériences.

### IV. Publications 2005-2007

1. Den Auwer C., Llorens I., Moisy Ph., Vidaud C., Goudard F., Barbot C., Solari P.L., Funke H.

Actinide uptake by transferrin and ferritin metalloproteins.

Radiochimica acta 2005, 93, 699-703.

2. Metian M., Hédouin L., Barbot C., Teyssié J.-L., Fowler S.W., Goudard F., Bustamante P., Durand J.-P., Piéri J., Warnau M.

Use of radiotracer techniques to study subcellular distribution of metals and radionuclides in bivalves from the Noumea lagoon, New Caledonia.

Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 2005, 75, 89-93.

3. Skiba M., Bounoure F., Barbot C., Tiret I., Arnaud P., Skiba M.

Development of cyclodextrin microspheres for pulmonary drug delivery.

Journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences 2005, 8, 409-418.

4. Skiba M., Barbot C., Bounoure F., Joudieh S., Skiba M.

Solubility and dissolution rate of progesterone-cyclodextrin-polymer systems

Drug development and industrial pharmacy 2006, 32, 1043-1058.

5. Bounoure F., Lahiani Skiba M., Barbot C., Sughir A., Mallet E., Jezequel S., Didier L., Arnaud P. and Skiba M.

Effect of partially methylated cyclodextrin on percutaneous absorption of metopimazine.

Journal of inclusion phenomena and macrocyclic Chemistry 2006, DOI:10.1007/s10847-006-9195-x.

6. Dutet J., Lahiani Skiba M., Didier L., Soizic J., Bounoure F., Barbot C., Arnaud P. and Skiba M.  
Nimesulide/cyclodextrin/PBG 6000 ternary complexes: physicochemical characterization, dissolution studies and bioavailability in rats.

Journal of inclusion phenomena and macrocyclic Chemistry 2006, DOI: 10.1007/s10847-006-9193-z.

7. Barbot C., Bouloussa O., Szymczak W., Plaschke M., Buckau G., Durand J.-P., Piéri J., Kim J.I., Goudard F.

Self-assembled monolayers of aminosilanes chemically bonded onto silicon wafers for immobilization of purified humic acids.

Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects 2007, 297, 221-239.

## **DEVELOPMENT OF CYCLODEXTRIN MICROSPHERES FOR PULMONARY DRUG DELIVERY**

Cécile Barbot, Malika Skiba\*, Philippe Arnaud\*, Mohamed Skiba\*  
*Laboratoire de Chimie générale et minérale,  
Laboratoire de pharmacie galénique et biopharmacie  
ADEN-UPRES EA 3234, UFR de Médecine-Pharmacie,  
22, Boulevard Gambetta, 76183 Rouen Cedex, France*

Cyclodextrin (CD) microspheres have been shown to be stable vectors for drug encapsulation and may have some applications in pulmonary drug delivery when deposited in the alveolar region.

In this poster, we describe our efforts to optimize the synthesis of 5  $\mu\text{m}$ -microcapsules by interfacial cross-linking of  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) with terephthaloyl chloride, from native cyclodextrins, intended for alveolar drug delivery following inhalation.

We measured the influence of reaction conditions on the resulting microparticle size. Once our size objectives were reached, fabrication yield and pH of the colloidal suspension (nearest physiological pH) were optimized and microparticles characterized by granulometry, FT-IR and DSC.

The second part of the study concerned the microparticles complexing properties with amikacin sulfate, a potential drug to be administered in pulmonary disease. The effects of variations in the preparation conditions of encapsulated microparticles were investigated.

Optimization of these microspheres is now followed by experimental plans.

FACULTE DE PHARMACIE DE STRASBOURG

Bioinformatique et Dynamique des Interactions Moléculaires

Département de Pharmacochimie de la Communication Cellulaire - Institut Gilbert Laustriat  
UMR 7175 - CNRS/Université Louis Pasteur Strasbourg

I - Composition de l'équipe.

Professeur : Bernard Spiess  
bernard.spiess@pharma.u-strasbg.fr

Maitre de Conférences : Clarisse Maechling  
clarisse.maechling@pharma.u-strasbg.fr

ATER : Patrick Gizzi

II - Activités d'enseignement et charges administratives.

Bernard Spiess est directeur -adjoint de la faculté et s'est occupé de la création et de la mise en place des masters Sciences du Médicament proposés par la faculté (Pharmacologie (R+P), Ingénierie pharmaceutique (R+P), Droit communautaire et réglementations pharmaceutiques (P), Analyse physico-chimique et contrôle de qualité des médicaments et des aliments (P), Assurance qualité et contrôle microbiologique des produits de santé et des aliments (P), Biotechnologie : ingénierie des protéines d'intérêt économique (R+P), Recherche et développement pharmaceutique (P, formation continue))

[http://www-fac-pharma.u-strasbg.fr/Master/offre\\_master\\_menu.php](http://www-fac-pharma.u-strasbg.fr/Master/offre_master_menu.php)

Charge d'enseignement 2005/06 : 210h équivalent TD.

Clarisse Maechling est responsable de la mise en œuvre des bonnes pratiques de laboratoire en travaux pratiques, ainsi que du collège de 3<sup>e</sup> année.

[http://www-fac-pharma.u-strasbg.fr/Bpl/bonnes\\_pratiques\\_de\\_laboratoire.php](http://www-fac-pharma.u-strasbg.fr/Bpl/bonnes_pratiques_de_laboratoire.php)

Charge d'enseignement 2005/06 : 215h équivalent TD.

Patrick Gizzi occupe depuis la rentrée 2005 un demi-poste d'ATER en chimie physique et analytique.

Charge d'enseignement 2005/06 : 95h équivalent TD.

Dans le cursus de pharmacie :

Les enseignements magistraux sont principalement ceux de Chimie Générale et Chimie Physique de 1<sup>ère</sup> année (41h/65h) et de Chimie Minérale de 2<sup>ème</sup> année (18h).

Les enseignants de Physique, de Chimie Analytique et de Chimie-Physique et Minérale sont regroupés en « pool » d'enseignants et assurent en commun l'ensemble des travaux pratiques et travaux dirigés relatifs à ces disciplines.

Dans le cadre des masters organisés par la faculté, nous participons aux UE :

- analyse physico-chimique et instrumentation
- qualité du médicament
- dossiers d'AMM - étude de cas
- éthique et biotechnologie

Hors faculté de pharmacie : Master de Chimie - Sciences Analytiques - UE Complexation sélective par reconnaissance ionique et applications.

Les enseignants de notre équipe assurent la mise en place et la coordination des Bonnes Pratiques de Laboratoire aux T.P. relatifs à tous les enseignements de la faculté, et ont mis au point, avec l'aide d'informaticiens de l'université, un logiciel de gestion de la qualité adapté à l'enseignement.

III. Activités de recherche.

Etude de molécules polyfonctionnelles à visée thérapeutique - Approche inframoléculaire

Une activité biologique ou un effet thérapeutique résulte en général de l'interaction d'un ligand avec son récepteur. Ces deux partenaires ne sont pas les seuls responsables de l'expression de cette activité et de nombreux autres facteurs interviennent dans les mécanismes complexes de sa régulation. Parmi ces facteurs, certains se trouvent dans l'environnement immédiat du complexe ligand-récepteur, et l'étude de leur interaction avec le ligand peut éclairer un mécanisme d'action. Ainsi, des variations de pH ou de concentrations locales de cations inorganiques (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>,

Zn<sup>2+</sup> .....) ou organiques (spermine, spermidine.....) sont susceptibles de moduler l'activité biologique. En effet, la présence de ces cations dans le milieu modifie, par les changements structuraux et conformationnels qu'ils induisent, la liaison du ligand avec son récepteur.

Les études réalisées dans notre équipe visent à cerner les interactions intra et intermoléculaires de ligands polyfonctionnels naturels phosphorylés ou non d'intérêt biologique de manière à orienter la synthèse d'analogues structuraux doués d'une activité thérapeutique.

L'originalité de l'approche réside dans son aspect intramoléculaire, c'est-à-dire de la connaissance de paramètres physico-chimiques et structuraux relatifs aux groupements fonctionnels individuels d'une molécule, et dans son aspect dynamique qui considère l'évolution de ces paramètres sous l'effet de la variation d'un des composants du milieu.

Les techniques expérimentales mises en œuvre sont essentiellement des techniques par titrages potentiométrique et résonance magnétique nucléaire (<sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P, <sup>13</sup>C, COSY, HOESY...). Ces études sont avantageusement complétées par la modélisation moléculaire, ainsi que par des techniques de spectroscopies moléculaires et de titrage par microcalorimétrie isotherme.

#### Mots-clés :

- Inositol-phosphates, adénophostine et analogues, NAADP, cADPR et analogues, seconds messagers, signal calcique.
- Norbadiolone (molécule présente dans certains champignons), complexation du <sup>137</sup>Cs, décontamination radioactive.
- Génistéine et polyphénols analogues
- Interactions ARN-aminoglycosides

#### Collaborations

Prof. M. Borkovec - Université de Genève

Prof. B. Potter - Université de Bath - Angleterre

Prof. S. Shuto - Université Hokkaido - Japon

Dr. P. Dumas et Dr. E. Ennifar - IBMC (Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire) - Strasbourg

#### Publications 2004 -

- Conformational and intramolecular studies of the protonation of Adenophostin analogues lacking the Adenine moiety. H. DOZOL, C. MAECHLING, R. GRAFF, A. MATSUDA, S. SHUTO AND B. SPIESS. *B.B.A.* 2004, 1671, 1-8.
- Microscopic Ionization Mechanism of Inositol Tetrakisphosphates. M. BORKOVEC and B. SPIESS. *Phys. Chem. Chem Phys.* 2004, 6, 1144-1151.
- *o*-6-Deoxy *myo*-inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate an effective mimic of *o*-*myo*-inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate: - Biological activity and pH-dependent conformational properties. G. HORNE, C. MAECHLING, A. FLEIG, H. TAKEUCHI, M. HIRATA, R. PENNER, B. SPIESS, B.V.L. POTTER. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2004, 320(4), 1262-1270.
- 2- *O*-(2-Aminoethyl)-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate as a novel ligand for conjugation: physicochemical properties and synthesis of a new Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> affinity matrix. M. RILEY, H. DOZOL, B. SPIESS and B. V. L. POTTER. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2004, 318(2), 444-452.
- Intramolecular protonation process of norbadiolone A: influence of the ionic environment and stereochemical consequences. P. KUAD, M. BORKOVEC, M. DESAGE-EL MURR, T. Le GALL, C. MIOSKOWSKI, B. SPIESS. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127(4), 1323-1333.
- Straightforward detection of the secondary ionisation of the phosphate group and pK determinations by high-resolution solid-state <sup>31</sup>P NMR. C. GARDIENNET, B. HENRY, P. KUAD, B. SPIESS and P. TEKELY. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 2005, (2), 180-182.
- *scyllo*-inositol pentakisphosphate as an analogue of *myo*-inositol 1,3,4,5,6-pentakisphosphate: Chemical synthesis, physicochemistry and biological applications. Riley A.M., Trusselle M., Kuad P., Borkovec, M., Cho J., Choi J.H., Qian X., Shears S. B.), Spiess, B., Potter, B.V. L. *CHEMBIOCHEM* 2006, 7 (7), 1114-1122
- 3-hydroxybenzene 1,2,4-trisphosphate, a novel second messenger mimic and unusual substrate for type-I *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase: Synthesis and physicochemistry Mills, S. J., Dozol, H., Fabrice, V., Backers, K., Woodman, T., Erneux, C., Spiess, B., Potter, B.V. L. *CHEMBIOCHEM* 2006, 7 (11), 1696-1706

**Université Paul Sabatier TOULOUSE III**

**Faculté des Sciences Pharmaceutiques**

**Laboratoire de Chimie Pharmaceutique :  
Chimie Organique, Chimie Générale et Minérale**

**35, Chemin des Maraîchers, 31062 TOULOUSE cedex 09**

**I - Composition du service :**

- **Professeur :** Mme Geneviève BAZIARD-MOUYSSET
- **Maîtres de Conférences :**  
Mme Marie-Hélène DARBIEU  
Mr Jean-Luc STIGLIANI
- **Ater :** Mme Barbora LAJOIE

**II - Enseignement :**

**1ère Année :**

Atomistique, Cinétique, Thermodynamique, Equilibres en solution aqueuse...

Responsables: Mme G. BAZIARD MOUYSSET et Mr Jean-Luc STIGLIANI

- Cours magistraux : 39 h x 2
- Travaux Dirigés : 10 séances de 1 h 30 à 14 séries.

**2ème Année: Chimie Minérale.**

- Cours magistraux : 16h
- Travaux Dirigés: 3 séances de 1 h 30 à 6 séries,  
Responsable: Mme Marie-Hélène DARBIEU
- Travaux Pratiques :
  - TP spécifiques : 4 séances de 2 h 30 à 6 séries (dont 3 séances de chimie minérale)
  - TP initiation à la manipulation : 3 séances de 3h à 6 séries  
Responsable : Mr Jean-Luc STIGLIANI

**Masters et U.E. optionnelles :**

- Participation à l'U.E. Internat :
  - 4h de cours/TD en 3<sup>ème</sup> année
  - 2h de cours/TD en 4<sup>ème</sup> année
- M1 *Conception et structure des molécules d'intérêt thérapeutique* :  
6 h de cours de Modélisation Moléculaire et 3 h de TD (prise en main d'un logiciel de Modélisation Moléculaire à l'aide d'exemples)

**III - Ouvrages:**

Recueils annuels de T.D. de 1<sup>ère</sup> Année, Annales corrigées des concours de 1<sup>ère</sup> Année  
Manuels de T.P. de 2<sup>ème</sup> Année

**IV - Activités de Recherche :**

**G. BAZIARD** : Equipe EA 3036 : *Interaction et signalisation cellulaire : relations hôte-pathogène.*

- Synthèse et étude de la réactivité des hétérocycles
  - Analyse Structurale
  - Etudes physico-chimiques, analyse thermique
  - pharmacomodulation et relations Structure Activité
- Synthèse d'hétérocycles azotés à visée antiparasitaire.  
- Synthèse d'analogues d'homosérine lactones inhibiteurs de la croissance du biofilm bactérien.

**J.L. STIGLIANI** : Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS - *Oxydations Biomimétiques*

- Relations Structure Activité, Modélisation moléculaire
- Etude du mécanisme d'activation de l'isoniazide (INH), aboutissant à la formation de l'adduit INH-NADH, actif sur *Mycobacterium tuberculosis*.  
- Etude de l'interaction d'analogues potentiels de l'adduit INH-NADH avec la cible biologique de l'isoniazide (InhA), par modélisation moléculaire (docking et évaluation des affinités).

## LABORATOIRE D'HYGIENE ET TOXICOLOGIE\*

### FACULTE DE PHARMACIE TOURS

#### Personnel

1 professeur, + 1 MCU Toxicologue  
+ 1 Agent technique à temps partiel

\* Roger Deloncle anciennement MCU Hors classe de Chimie Minérale a été nommé en septembre 2006 comme Professeur à la tête du laboratoire de Toxicologie et continue à assurer comme par le passé les enseignements magistraux de Chimie Minérale et Chimie Bio-inorganique. Les enseignements pratiques et dirigés correspondants sont assurés par deux MCU de 39<sup>e</sup> section d'autres laboratoires .

#### Enseignement

##### 1<sup>o</sup> Année de pharmacie

*Chimie Minérale ( 16 heures cours magistral )* : Tableau périodique. Généralités métaux –non métaux. Notions de cristallographie. Les complexes. Etude de groupes du tableau périodique fortement impliqués dans le règne biologique: Les éléments alcalins. Les éléments alcalino-terreux. Les éléments de transition. Les Halogènes (+ 3 séances d'ED : Cristallographie. Complexes)

##### 2<sup>o</sup> Année de pharmacie 30 heures de TP par étudiant ( 9 manipulations + 1 examen ) :

Conductimétrie. Calorimétrie. Produit de solubilité. Oxydo réduction. Cinétique du 1<sup>o</sup> ordre. Préparation d'acide borique. Préparation de carbonate de calcium Préparation de thiosulfate de sodium. Etude qualitative des complexes.

##### 4<sup>o</sup> Année de pharmacie ( 10 heures cours magistral Chimie Bio Inorganique) Généralités sur les oligo éléments. Monographies Zinc, Sélénium, Cuivre , Fer, Cobalt, Mercure, Aluminium, Fluor, Iode.

#### Recherche

Thématique : métaux et processus neurotoxiques ou neurodégénératifs

*Aluminium, maladie d'Alzheimer et encéphalopathies des dialysés* : Nous avons monté in vitro puis in vivo chez le rat que l'aluminium était capable de se complexer avec l'acide glutamique, de traverser la barrière hémato-encéphalique (B.H.E.) et de se déposer au niveau cérébral sélectivement dans le cortex, l'hippocampe et le striatum. En procédant par intoxication chronique par le glutamate d'aluminium chez le rat nous avons montré que l'aluminium était capable d'induire des modifications de la B.H.E, de perturber la transmission dopaminergique et d'accélérer le processus de vieillissement cérébral.

Par ailleurs, par expérimentation in vitro, nous avons établi par dichroïsme circulaire que le peptide précurseur  $\beta$  amyloïde ( $\beta$ 1-40) qui se trouve à l'état natif sous la conformation en hélice  $\alpha$  se transformait en feuillets  $\beta$  en présence de glutamate ou d'aspartate d'aluminium comme cela s'observe dans la maladie d'Alzheimer.

Nous avons en outre monté par compétition de complexation avec du D-aspartate de magnésium que l'on pouvait prévenir le dépôt d'aluminium au niveau des structures cérébrales mais aussi extraire l'aluminium déjà omni-présent dans ces structures.

**Orientation actuelle de nos travaux concernant la maladie d'Alzheimer: Similitudes avec la maladie de Creutzfeldt Jakob**

Depuis les premiers travaux de Stanley Prusiner en 1983 concernant les maladies à prions, les travaux scientifiques visant à enrayer les épidémies d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) en Grande Bretagne et en France ont permis de mettre en évidence des analogies troublantes entre les processus neurodégénératifs que sont la maladie de Creutzfeldt Jakob et la maladie d'Alzheimer.

Dans ces deux processus on observe une modification de conformation d'une protéine qui dérive d'un peptide physiologique transmembranaire, la protéine prion dans le cas de la maladie de Creutzfeldt Jakob et le peptide amyloïde dans le cas de la maladie d'Alzheimer. Pour ces deux maladies neurodégénératives, on note un passage de la protéine incriminée d'une conformation physiologique en hélice alpha à une conformation pathologique en feuillets bêta qui se dépose à l'intérieur des neurones entraînant la mort de ces derniers. Sous conformation « feuillets » ces deux protéines ne sont plus digérables par la protéinase K et cette propriété est en particulier utilisée dans les tests de dépistage des encéphalopathies spongiformes.

Il importe de remarquer que pour ces deux pathologies, maladies de Creutzfeldt Jakob et d'Alzheimer, la protéine physiologique prion et le peptide bêta amyloïde fixent le cuivre et sous cette forme ces deux peptides présentent des propriétés analogues à celle d'une enzyme redox, la super oxyde dismutase (SOD) qui protège la cellule contre le stress oxydant. Les travaux de D.R. Brown et de M. Purdey (année 2000) ont montré chez l'homme, une diminution de la teneur en cuivre et une augmentation jusqu'à dix fois la teneur normale en manganèse dans des cas de maladie de Creutzfeldt Jakob sporadique en Slovaquie de même que chez des bovidés sauvages développant une encéphalopathie spongiforme aux Etats Unis et au Canada. Il a en outre été montré que le manganèse faisait perdre à la protéine prion sa propriété super-oxyde dismutase (SOD) protectrice contre les radicaux libres.

A partir d'obex bovin négatif au test Prionics de dépistage de la protéine prion bovine, nous avons montré que le cuivre pouvait être déplacé de la protéine prion bovine en milieu réducteur par différents cations exogènes comme le manganèse, le nickel et le cobalt mais que cette substitution du cuivre était réversible lorsqu'on repassait en milieu oxydant. Nous avons montré que sous forme complexée avec du manganèse, la protéine prion ne pouvait plus alors jouer son rôle protecteur contre les radicaux libres permettant ainsi des attaques radicalaires capables de modifier la structure même du prion. Ce dernier devient protéinase K résistant et positive le test Prionics et nous proposons un mécanisme radicalaire pour expliquer les encéphalopathies spongiformes transmissibles (Deloncle & al. *Neurotoxicology* 27 ; 437-44, 2006).

**Suite de nos travaux :**

Dans le but de vérifier un éventuel pouvoir pathogène de l'homogénat d'obex Bovin positif au test Prionics obtenu au moyen de radicaux libres en milieu réducteur en présence de manganèse, des lots de rats ont été injectés par voie intra-cisternale cérébrale avec le dit homogénat et avec des homogénats témoins Prionics négatifs. Après une période de 11 mois, nous avons observé par imagerie RMN T2, au point d'injection, chez un des animaux traités un nodule de la taille d'une petite lentille dont l'examen anatomo-pathologique a révélé la présence d'un processus néoplasique avec en périphérie une dégénérescence similaire à une dégradation de type spongiforme. Une étude immuno histochimique cérébrale est en cours au moyen d'un anticorps monoclonal « prion de hamster » dirigé contre une séquence de 10 acides aminés analogue à la séquence correspondante du prion de rat.

Parallèlement à cette étude sur la protéine prion, nous procédons vis à vis de la protéine bêta amyloïde de manière analogue pour essayer de mettre en évidence une implication des radicaux libres dans la genèse de la maladie d'Alzheimer.

UNIVERSITE DE LIMOGES  
LABORATOIRE DE CHIMIE PHYSIQUE ET CHIMIE MINERALE

**Personnel**

Christiane DELAGE (Pr)  
Alain SIMON (MC)  
Ludovic MICALLEF (Doctorant)  
Aline PINON (Assistant Ingénieur)

**ENSEIGNEMENT**

**Chimie Physique**

1<sup>ère</sup> année de Pharmacie (CM, ED)  
2<sup>ème</sup> année de Pharmacie (TP)  
DEUST : Technicien de Laboratoire de Contrôle et de mise au point analytique (CM, ED)

**Chimie Minérale**

1<sup>ère</sup> année de Pharmacie (CM, ED)  
2<sup>ème</sup> année de Pharmacie (TP)  
DEUST : Technicien de Laboratoire de Contrôle et de mise au point analytique (CM, ED)

**Master 1 Recherche : « Sciences Biologiques et Médicales »**

UE : « Biotechnologies et Ingénierie Biomédicale »  
Biomatériaux - Aspects réglementaires (CM, ED)

**RECHERCHE**

**Thématique**

Nous appartenons à l'Equipe EA 4021 : « Biomolécules et thérapies anti-tumorales », et notre thématique porte sur l'étude des processus : prolifération/différenciation/apoptose.

Nous avons étudié les effets anti-prolifératif et pro-apoptotique de l'acide ursolique, triterpène contenu dans certains fruits et plantes, sur des lignées cellulaires de la peau : les cellules HaCaT immortalisées, dérivées de kératinocytes, et les cellules M4Beu issues d'un mélanome humain.

Sur les deux lignées étudiées nous avons mis en évidence le potentiel antiprolifératif dose et temps dépendants de l'acide ursolique. Nous avons montré que cet effet antiprolifératif était la conséquence d'une mort cellulaire par apoptose. En effet, l'activité enzymatique de la caspase-3, caspase exécutrice majeure impliquée dans le processus apoptotique, est très significativement augmentée dans les deux lignées étudiées. Pour caractériser la voie de transduction qui conduit à l'activation de cette caspase, nous avons étudié les activités des caspases initiatrices, -8 et -9, impliquées respectivement dans la voie des récepteurs de mort et la voie mitochondriale. Nos résultats montrent que seule l'activité de la caspase-9 est augmentée (faiblement sur les cellules HaCaT et de manière significative sur les cellules M4Beu), ce qui suggère l'implication de la voie mitochondriale dans cette mort par apoptose.

Pour confirmer l'implication de cette voie, nous avons évalué la chute du potentiel transmembranaire mitochondrial, perturbation cellulaire qui marque un point de non retour dans la mort par apoptose. Cette étude, réalisée en cytométrie de flux à l'aide des fluorochromes TOTO-3 et JC-1, a révélé que l'acide ursolique induisait de manière dose-dépendante une chute du potentiel : 20% des cellules HaCaT et 62% des cellules M4Beu présentent un bas potentiel lorsqu'elles sont traitées avec 15  $\mu$ M d'acide ursolique. La chute du potentiel mitochondrial s'accompagne habituellement d'une libération dans le cytoplasme de molécules apoptogènes, et en particulier du cytochrome c. Par marquage immunocytochimique *in situ*, nous avons montré que l'acide ursolique induisait à partir de la mitochondrie, la libération de cette molécule apoptogène dans les deux lignées étudiées. Cette libération est régulée à partir de la mitochondrie par des protéines de la

famille Bcl-2 (Bax : pro-apoptotique et Bcl-2 : anti-apoptotique). A l'aide de la technique du Western Blot, nous avons montré que l'acide ursolique induisait sur les cellules M4Beu, une augmentation dose-dépendante de l'expression de la protéine Bax et de manière concomitante une diminution dose-dépendante de celle de la protéine Bcl-2, ce qui confirme de manière indiscutable, l'effet pro-apoptotique de l'acide ursolique *via* la voie mitochondriale sur les cellules de cette lignée ; cet effet n'est pas observé sur les cellules de la lignée HaCaT.

Nos objectifs sont de préciser actuellement les marqueurs impliqués dans les processus de prolifération/différenciation/apoptose sur les cellules humaines HaCat, M4Beu et sur des cultures primaires de kératinocytes humains, afin de mieux appréhender ces mécanismes.

Le maintien de la structure mais aussi des fonctions de l'épiderme implique un constant renouvellement des cellules qui le composent. Des cellules épithéliales immatures situées sur la lame basale prolifèrent, se différencient et migrent progressivement à travers la couche spinuse puis à travers la couche granuleuse jusqu'à la couche cornée.

La couche cornée, couche superficielle de l'épiderme, assure une fonction barrière entre l'individu et son environnement. Elle est formée par l'empilement de cornéocytes issus de la différenciation terminale des kératinocytes. L'apparition de nombreuses pathologies de l'épiderme peut être liée à l'altération du processus de la maturation de ces cellules et on observe alors une augmentation de la vitesse de multiplication des kératinocytes.

Nos travaux ont montré que l'acide ursolique possédait *in vitro* des effets antiprolifératif, anti-inflammatoire et induisait l'apoptose sur des kératinocytes immatures. De plus des études ont mis en évidence que cette molécule pouvait induire la synthèse de collagène dans les kératinocytes et augmenter le taux de céramides (Yarosh et al ; 2000).

Aussi, dans la continuité de ces travaux, notre orientation actuelle est la suivante :

1. Mise en place d'un modèle expérimental sur la lignée cellulaire humaine HaCat afin :
  - de disposer d'outils pour la recherche fondamentale pour mieux comprendre les grandes fonctions
  - d'étudier différents marqueurs de différenciation
  - de cribler de nouvelles molécules et tester leur efficacité
2. Etude de divers marqueurs biologiques impliqués dans les processus de prolifération/différenciation/apoptose : kératines (K1, K10, K14), involucrine, filaggrine, céramides et fonction barrière, protéines P53 et P21, facteurs de transcription PPARS ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), analyse et choix de marqueurs de différenciation kératinocytaire dont l'expression est contrôlée par les PPARS
3. Etude de la modulation des marqueurs kératinocytaires impliqués dans ces processus par des biomolécules végétales (et éventuellement leurs métabolites), afin d'envisager alors des traitements pharmacologiques (cicatrisation, psoriasis et cancer de la peau).
4. Etude du mode d'action de l'acide ursolique dans la maturation de l'épiderme. Pour cela nous nous proposons de compléter les études d'induction d'apoptose et de maturation (avec et sans acide ursolique) sur la lignée HaCat à différents stades de maturation (j0 ; j5 ; J13 de co-culture avec 1,5mM de  $Ca^{2+}$ ) *via* l'expression de marqueurs spécifiques. Cette étude a pour objectif d'établir un profil d'expression génique des kératinocytes aux trois stades de maturation par une méthode de puce à ADN ; nous établirons ensuite un profil d'expression génique de l'action de l'acide ursolique sur ces trois types de maturation des kératinocytes.

Cette étude doit nous permettre :

- de comprendre les mécanismes impliqués dans la maturation des kératinocytes, d'identifier des voies biochimiques impliquées dans cette maturation, d'étudier des cibles thérapeutiques potentielles ;

- de comprendre le mode d'action de l'acide ursolique dans la maturation et l'induction de l'apoptose et de le comparer avec d'autres agents utilisés dans le traitement du cancer, afin de prédire si l'acide ursolique peut agir seul ou en combinaison avec d'autres agents thérapeutiques.

**Publications**

CARDOT J.P., BATTU S., SIMON A., DELAGE C.

Hyphenation of sedimentation field flow fractionation with flow cytometry

*Journal of chromatography*, 2002, **768**, 285-295

STOYANOV EV., CHAMPAVIER Y., SIMON A., BASLY JP.

Efficient liquid-phase synthesis of 2'-hydroxychocones

*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2002, **12**, 2685-2687

HARMAND P. O, DUVAL R, LIAGRE B, JAYAT-VIGNOLES C, BENEYTOU J. L, DELAGE C, SIMON A.

Ursolic acid induces apoptosis through caspase-3 activation and cell cycle arrest in HaCat cells.

*International Journal of Oncology*, 2003, **23** (1), 105-112

HARMAND P.O, DUVAL R, DELAGE C, SIMON A.

Ursolic acid induces apoptosis through mitochondrial-intrinsic pathway and caspase-3 activation in M4Beu melanoma cells. *International Journal of Cancer*, 2005, **114**, 1-11

HARMAND P.O, DUVAL R, JAYAT- VIGNOLES C, DELAGE C, SIMON A.

Interest of JC-1/TOTO-3 double staining for mitochondria-triggered apoptotic cell death investigations: comparative study with HaCat and M4Beu cell lines. *Cytometry (soumis)*

**Thèse (Octobre 2004)**

HARMAND Pierre Ollivier

Eude du processus apoptotique induit par l'acide ursolique sur deux lignées cellulaires humaines de la peau :

-les cellules HaCat dérivées de kératinocytes humains

-les cellules M4Beu issues d'un mélanome humain

UNIVERSITÉ DE LA MÉDITERRANÉE, FACULTÉ DE PHARMACIE, MARSEILLE  
LABORATOIRE DE CHIMIE GÉNÉRALE  
ET  
PREVENTION DES RISQUES & NUISANCES TECHNOLOGIQUES

ORGANISATION DU LABORATOIRE

<i>PU</i>	<i>PAST</i>	<i>MCU</i>	<i>ASI</i>	<i>Secret. hors statut</i>
SARI J.C. GALLICE P.	ATHUYT T.	MIANE J.M. BLANC A.	CHASPOUL F.	PREDAL J. CAILLOL J.

ACTIVITÉ D'ENSEIGNEMENT*I - ETUDES PHARMACEUTIQUES*

<i>1<sup>ère</sup> Année</i>	<i>Cours (30 h) ED (9h/étudiant)</i>	<i>Atomistique Thermodynamique Cinétique chimique</i>
<i>2<sup>ème</sup> Année</i>	<i>Cours (20 h) TP (21h/étudiant)  Cours (20 h)</i>	<i>Thermodynamique des interactions médicaments-récepteurs Thermodynamique appliquée aux Risques Chimiques  Biophysique</i>
<i>4<sup>ème</sup> Année</i>	<i>Cours (2 h)</i>	<i>Enseignement Coordonné : Environnement &amp; Santé</i>

*II - MASTER PROFESSIONNEL : PRÉVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES*

Direction et gestion de la formation qui peut être suivie :

- En formation continue
- En formation par apprentissage (M2)

et qui comprend :

- 1250 h d'enseignement théorique et pratique réparties de mi-septembre à fin juin sous forme de 12 UE obligatoires et 2 UE spécialisées (Risque Nucléaire – Risques Professionnels & Industriels).
- 26 semaines d'apprentissage en entreprise qui se fait en alternance de 15 jours durant l'année universitaire et à plein temps durant l'été.

*III - M.S.T. 'MÉTHODES ET VALORISATION DE LA CHIMIE FINE*

<i>2<sup>ème</sup> Année</i>	<i>Cours (10 h)</i>	<i>Chimie - Physique</i>
------------------------------	---------------------	--------------------------

*IV - D.E.U.S.T. 'PRODUCTION - QUALITÉ'*

<i>2<sup>ème</sup> Année</i>	<i>Cours (10 h)</i>	<i>Chimie - Physique</i>
------------------------------	---------------------	--------------------------

## ACTIVITÉ DE RECHERCHE

Le laboratoire fait partie de l'Equipe d'Accueil EA1784 « Biogénotoxicologie et Mutagenèse Environnementale » dirigée par le Pr. A. Botta, elle même intégrée à l'IFR 112 « Pôle Méditerranéen des Sciences Environnementale » dirigé par le Pr Jean Yves Bottero. Ces structures font partie de l'Europôle de l'Arbois labellisé Pôle de Compétitivité pour la thématique « Gestion des risques et vulnérabilité des territoires ». Quatre axes sont individualisés dans ce pôle :

Risques industriels (accidentels, pollution chronique, gestion des déchets.....)

Risques urbains (la ville et la gestion de l'eau)

Communications (systèmes communicants de mesure et d'alerte)

Risques « naturels » (risques incendies, risques hydriques.....)

Les travaux menés au laboratoire concernent l'axe Risques industriels et sont relatifs à la métrologie, la biométrologie et l'étude des interactions cellulaires et moléculaires de substances mutagènes/cancérogènes/reprotoxiques. Dans ce cadre la recherche est articulée autour de 2 thèmes princeps : « métaux lourds » et « hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) ».

### **Thème I : Métaux lourds**

Cette thématique comporte 3 domaines :

- ◆ Etude de la réduction des métaux lourds par des espèces bactériennes compétentes.
- ◆ Etude du rôle et de l'effet de Cr(VI) sur des fibroblastes humains en culture.
- ◆ Etude de l'exposition aux fumées émises des personnels exerçant une activité de soudage
- ◆ Etude de la réduction des métaux lourds par des espèces bactériennes compétentes.

Cette recherche, menée en collaboration avec les équipes du Laboratoire de Bioénergétique et d'Ingénierie des Protéines CNRS (Directeur : M.Bruschi), porte sur l'étude des propriétés que possèdent certaines bactéries à réduire les espèces métalliques en éléments peu solubles. Propriétés pouvant conduire à la mise en œuvre de procédés naturels de décontamination de milieux pollués.

La capacité de ces bactéries à réduire les métaux étant étroitement liée aux différents cytochromes constitutifs de leur structure, dans le cadre de cette recherche, nous réalisons :

- par microcalorimétrie isotherme, l'étude thermodynamique du métabolisme global des bactéries en milieu complexe.
- par HPLC-ICP-MS, l'étude cinétique de la biotransformation des métaux lourds (Cr et Se).
- par microcalorimétrie isotherme, l'étude thermodynamique de l'interaction des métaux lourds avec les cytochromes purifiés ainsi que l'étude d'interaction de différents cytochromes impliqués dans la chaîne respiratoire de ces bactéries.

♦ Etude du rôle et de l'effet de Cr(VI) sur des fibroblastes humains en culture

Les métaux lourds tels que le chrome et l'arsenic sont des contaminants ubiquitaires environnementaux et industriels. L'exposition à ces métaux est fortement associée à leur toxicité et leur cancérogénicité. Toutefois, l'origine de leurs effets et leurs mécanismes d'action restent peu connus. C'est pourquoi, nous avons pour objectif d'étudier:

- l'effet de Cr(VI) sur le métabolisme énergétique cellulaire en mettant en œuvre une technique originale de microcalorimétrie isotherme et son impact sur la respiration par oxymétrie.
- la biotransformation de cette espèce métallique, son transport membranaire et la formation d'adduits à l'ADN des cellules par spéciation au moyen d'un spectromètre de masse couplé à une torche à plasma et une chromatographie liquide haute performance (HPLC-ICP-MS).

♦ Etude de l'exposition aux fumées émises des personnels exerçant une activité de soudage

Ce travail a pour objectif d'évaluer le risque chimique lié à cette activité professionnelle.

Ainsi un groupe de personnels exerçant une activité de soudage a été étudié comparativement à un groupe de sujets témoins. Pour chaque groupe les concentrations sanguines et urinaires en Al, Cd, Cr, Co, Pb, Mn, Ni et Zn ont été déterminées, des tests de mutagénèses (Comètes) et de réparation d'ADN (micronoyaux) ont été réalisés et le polymorphisme génétique de XRCC1(p.Arg399Gln) et XRCC3 (p.Thr241Met) étudié. Les résultats obtenus ont permis de montrer une concentration biologique des métaux plus élevée chez les soudeurs associée à des altérations de l'ADN, des dommages chromosomiques et au polymorphisme génétique de XRCC1 ; ce qui nous a conduit à préconiser la mise en place d'un plan de prévention contre l'exposition aux fumées de soudage pour les personnels exerçant cette activité.

## **Thème II : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)**

L'objet de cette étude dont la partie expérimentale a débuté fin 2003 est de contribuer à la connaissance, l'évaluation et la prévention des cancers professionnels liés à l'exposition aux HAP en étudiant le risque génotoxique de ces molécules. Cette recherche multidisciplinaire associe des études métrologiques, biométrologiques, génotoxiques et de profils d'expression de gènes. Dans ce domaine, en charge des aspects métrologiques et biométrologiques, nous nous intéressons à la présence au poste de travail des HAP et de leur dérivés nitrés ainsi qu'au métabolisme de ces mêmes molécules. Pour cela, des méthodes analytiques par GC-MS & HPLC-FD sont développées et mises en œuvre.

**PUBLICATIONS 2003 - 2006:**

Chardin B., Chaspoul F., Gallice P.

Heavy metals speciation by HPLC/ICP-MS – Application to the reduction of Cr(VI) and As(V) by sulphate-reducing bacteria.  
Can J Anal Sci Spect 2003, 48, 336-42.

Pieulle L., Nouailler M., Morelli X., Cavazza C., Gallice P., Blanchet S., Bianco P., Guerlesquin F., Hatchikian C.

Multiple orientations in a physiological complex : the pyruvate-ferredoxin oxidoreductase/ferredoxin system.  
Biochemistry 2004, 43, 15480-93.

Berthold F., Barban G., Chaspoul F., Gallice P.

Simultaneous GC/MS analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated derivatives.  
Polycyclic Aromatic Compounds Journal 2005, 25, 157-167.

Guiral M., Leroy G., Bianco P., Gallice P., Guigliarelli B., Bruschi M., Nitschke W., Giudici-Ortoni MT.

Interaction and electron transfer between the high molecular weight cytochrome and cytochrome c3 from *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough: Kinetic, microcalorimetric, EPR and electrochemical studies.  
Biochimica Biophysica Acta 2005, 1723, 45-54.

Pieulle L., Morelli X., Gallice P., Lojou E., Barbier P., Czjzek M., Bianco P., Guerlesquin F., Hatchikian E.C.

The Type I Type II Cytochrome c<sub>3</sub> Complex: an Electron Transfer Link in the Hydrogen-Sulfate Reduction Pathway.  
Journal of Molecular Biology 2005, 354, 73-90.

Iarmacovai G., Sari-Minodier I., Chaspoul F., Botta C., De Meo M., Orsiere T., Bergé-Lefranc JL., Gallice P., Botta A.

Risk assessment of welders using analysis of eight metals by ICP-MS in blood and urine and DNA damage evaluation by the comet and micronucleus assays; influence of XRCC1 and XRCC3 polymorphisms.  
Mutagenesis 2005, 20, 425-432.

Iarmacovai G, Sari-Minodier I, Orsiere T, De Meo M, Gallice P, Bideau C, Iniesta D, Pompili J, Berge-Lefranc JL, Botta A

A combined analysis of XRCC1, XRCC3, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and centromere content of micronuclei in welders  
Mutagenesis 2006, 21, 159-165.

Botta C, Iarmacovai G, Chaspoul F, Sari-Minodier I, Pompili J, Orsiere T, Berge-Lefranc JL, Botta A, Gallice P, De Meo M

Assessment of occupational exposure to welding fumes by inductively coupled plasma-mass spectroscopy and by the alkaline Comet assay  
Environmental and Molecular Mutagenesis 2006, 47, 284-295.

**COMMUNICATIONS 2003 – 2006**

Chardin B., Chaspoul F., Gallice P.

*Spéciation des métaux lourds par HPLC/ICP/MS- Application à la réduction de Cr VI et As V par Desulfomicrobium Norvegicum.*

1<sup>er</sup> Congrès Spectr'Atom. Pau, France 2003.

Berthold F., Barban G., Chaspoul F., Gallice P.

*Simultaneous GC/MS analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated derivatives.*

9<sup>th</sup> FECS Conference on Chemistry and the Environment and 2<sup>nd</sup> SFC Meeting on Environmental Chemistry, Bordeaux, France, 2004.

Fassi R., Catani J., Iarmacovai G., Pittilloni A., Vigneron B., Fina L., Mardelle P., Tahmon J., Sari-Minodier I., Chaspoul F., Botta C., Pompili J., De Méo M., Orsière T., Bergé-Lefranc JL., Gallice P., Botta A.

*Caractérisation de l'exposition aux fumées de soudage en atelier, dans le secteur du BTP.*

28<sup>ème</sup> Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP, Cannes-Mandelieu, France, 2005.

Chaspoul F., Sari-Minodier I., Iarmacovai G., Gallice P.

*Caractérisation de l'exposition aux fumées de soudage en atelier dans le secteur du BTP :*

*Dosage des métaux dans les fluides biologique par ICP / MS*

28<sup>ème</sup> Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP, Cannes-Mandelieu, France, 2005.

Liu W., Chaspoul F., Berge Lefranc D., Decome L., Gallice P.

*Microcalorimetry as a tool for Cr VI toxicity evaluation in human dermal fibroblasts.*

37<sup>ème</sup> Journées de Calorimétrie et d'Analyse Thermique, Pau, France, 2006.

Sammut M., Rose J., Decome L., Gallice P, Botta A., Noack Y.

*Speciation of cadmium and lead in a sintering plant; sanitary impact.*

17<sup>th</sup> EFCA Speciality Conference, Lille, France, 2006.

LABORATOIRE DE CHIMIE MINÉRALE et THERAPEUTIQUE  
Faculté de Pharmacie, Université de la Méditerranée  
27 Bd Jean Moulin  
13385 Marseille Cedex 05

ENSEIGNEMENTS

Pr Pascal RATHELOT  
Dr Sandrine ALIBERT  
Dr Pierre BROUANT  
Dr Caroline CASTERA-DUCROS

Dr Jean-Jacques CHARBIT  
Dr Abdallah MAHAMOUD  
Dr Jean-Pierre REBOUL

1 <sup>ère</sup> Année	Cours ED	Chimie Minérale (Étude des corps simples) Chimie Organique
2 <sup>ème</sup> Année	Cours TP	Chimie Minérale (Étude des corps composés)
3 <sup>ème</sup> Année	Cours TP disciplinaires et coordonnés	Chimie Thérapeutique
4 <sup>ème</sup> Année	Cours TP coordonnés	Chimie Thérapeutique
Internes	DES PHC et PIBM	Biomatériaux, Gestion pharmaceutique hospitalière, Chimie Thérapeutique
Années diverses	UE Optionnelle	Conception de structures et de molécules bioactives
MASTER COCV	UE Optionnelle	Bases de pharmaco-chimie et cibles thérapeutiques

RECHERCHE : UMR-MD1, FACULTÉ DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Dr Sandrine ALIBERT  
Dr Abdallah MAHAMOUD

Martine MAILLARD

**Thématique du Laboratoire :** Étude pharmaco-chimique des mécanismes de chimiorésistance chez les procaryotes

- ✓ Étude des mécanismes de résistance en particulier les mécanismes d'efflux de cytotoxiques
- ✓ Synthèse de molécules originales, inhibiteurs chimiques des mécanismes d'efflux
- ✓ Étude des relations structure-activité et optimisation des molécules synthétisées
- ✓ Modélisation moléculaire

## Publications :

A. Mahamoud, J. Chevalier, S. Alibert-Franco, W. V. Kern, J.-M. Pagès. *Antibiotic efflux pumps in Gram-negative bacteria : the inhibitor response strategy*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2007) in press

A. Mahamoud, J. Chevalier, A. Davin-Regli, J. Barbe, J.-M. Pagès. *Quinoline derivatives as promising inhibitors of antibiotic efflux pump in multidrug resistant Enterobacter aerogenes isolates*. Current Drug Targets, 2006, 7(7), 843-847

D. Ghisalberti, A. Mahamoud, J. Chevalier, M. Baitich, M. Martino, J.-M. Pagès, J. Barbe. *Chloroquinolines block antibiotic efflux pumps in antibiotic resistant Enterobacter aerogenes isolates*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2006, 27(6), 565-569

M. Henry, S. Alibert, E. Orlandi-Pradines, H. Bogreau, T. Fusai, C. Rogier, J. Barbe, B. Pradines. *Chloroquine resistance reversal agents as promising antimalarial drugs*. Current Drug Targets, 2006, 7(8), 935-948

## UMR 6517 : Chimie Biologie et Radicaux Libres

Pr Pascal Rathelot  
Dr Caroline Castera-Ducros

Les deux axes de recherche du laboratoire de Chimie Thérapeutique de la Faculté de Pharmacie sont :

- étude de mécanismes réactionnels radicalires ( $S_{RN}1$ ,  $E_{RC}1$ ) ou non (couplages)
- recherche de nouvelles molécules d'intérêt biologique (domaines antiparasitaire, cancérologie, SNC).

Ces deux axes s'intègrent dans le programme de recherche de l'UMR 6517, et consistent en l'application de ces 2 axes à la synthèses de molécules en séries hétérocyclique, quinonique et quinone-hétérocyclique.

## Publications

Verhaeghe P, Rathelot P, Gellis A, Rault S, Vanelle P. Highly efficient microwave assisted - trichlorination reaction of - methylated nitrogen containing heterocycles. *Tetrahedron* (2006), 62 : 8173-8176.

Pierre Verhaeghe, Pascal Rathelot, Sylvain Rault and Patrice Vanelle. Convenient preparation of original vinylic chlorides with antiparasitic potential in quinoline series. *Letters in Organic Chemistry* (2006), 3 : 891-897.

Castera-Ducros, Caroline; Crozet, Maxime D.; Vanelle, Patrice. Efficient synthesis of new 8-aryl tricyclic pyridinones. *Synthesis* (2006), (16), 2777-2783.

Crozet, Maxime D.; Castera-Ducros, Caroline; Vanelle, Patrice. An efficient microwave-assisted Suzuki cross-coupling reaction of imidazo[1,2-a]pyridines in aqueous medium. *Tetrahedron Letters* (2006), 47(39), 7061-7065.

El-Kashef H, Farghaly AR, Rathelot P, Vanelle P, Rault S. On the Synthesis of Pyrrolobenzo[b]thieno[1,4]diazepines. *Heterocycles* (soumis pour publication).

## CARACTÉRISATION DE NOUVELLES CIBLES THÉRAPEUTIQUES CHEZ *Plasmodium falciparum*

S. Alibert<sup>1</sup>, B. Pradines<sup>2</sup>, M. Henry<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UMR-MD1, Faculté de Pharmacie, 27 bd Jean Moulin, 13005 Marseille

<sup>2</sup>Unité de Recherche en Biologie et Épidémiologie Parasitaire, Service de Santé des Armées, le Pharo, Marseille

Nous nous intéressons plus particulièrement aux problèmes de pharmaco-résistance chez *Plasmodium falciparum*. Le développement croissant de souches résistantes aux antipaludiques courants a réduit considérablement leur utilisation clinique dans certaines régions du monde. C'est pourquoi de nouvelles stratégies de recherche sont nécessaires pour lutter contre le paludisme.

Les voies de recherche de nouveaux antipaludiques actifs sur des souches résistantes présentent la difficulté de trouver des molécules qui n'induisent pas de résistance à cause de l'apparition de résistances croisées. L'intérêt de l'équipe se focalise plus particulièrement sur la stratégie de la réversion de la chimiorésistance par des molécules appelées « réverseurs ou chimiosensibilisateurs » qui peuvent rétablir l'efficacité d'un médicament. Ces molécules n'inhibent pas directement la croissance du parasite et de ce fait la résistance induite par ces composés est très faible.

Nos travaux ont permis de mettre en évidence l'importance des mécanismes d'efflux des cytotoxiques dans les phénomènes de résistance. En effet, des études ont montré que l'accumulation intracellulaire d'antipaludique de type quinoléine -faible chez le parasite résistant- pouvait être rétablie par les « réverseurs ». Une étude pharmaco-chimique faite dans notre laboratoire sur des dérivés du 9,10-dihydro-9,10-éthano et éthénoanthracène (DEEA) a permis de mettre en évidence non seulement l'effet des « réverseurs » sur l'accumulation de l'antipaludique mais aussi sur l'accès de l'antipaludique à sa cible.

Nos études récentes montrent que les composés DEEA ont une activité de réversion de la résistance à trois antipaludiques de type quinoléine sur des souches et isolats d'origine différente. Les DEEA semblent donc être un outil prometteur à la fois pour faire la lumière sur les mécanismes d'action des chimiosensibilisateurs et mettre en échec les mécanismes de résistance aux quinoléines.

La résistance aux quinoléines semble être liée à des polymorphismes génétiques. En effet, des mutations sur des gènes codant des protéines de transport ont été mises en évidence. Ces transporteurs sont localisés dans la membrane de la vacuole digestive du parasite : PfCRT (*Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter), Pgh1 (P-glycoprotein homologue 1) et PFMRT (*Plasmodium falciparum* multidrug resistance protein). Les premières études de relations structure-activité et de modélisation moléculaire sur les dérivés DEEA ont pu mettre en évidence deux interactions liantes par liaisons hydrogène et ioniques avec deux acides aminés polaires analogues à deux acides aminés mutés sur la protéine PfCRT.

## RÉVERSION DE LA RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ *Enterobacter aerogenes*

A. Mahamoud<sup>a</sup>, J. Chevalier<sup>a</sup>, J.-M. Pagès<sup>b</sup>

UMR-MD1, Facultés de <sup>a</sup>Pharmacie et de <sup>b</sup>Médecine, 27 bd Jean Moulin, 13005 Marseille

Après les résultats prometteurs obtenus en parasitologie avec les dérivés de la 2,8,10-triméthylpyrido[3,2-g]quinoline **1**, nous avons préparé de nouveaux dérivés (**2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7**, **8**, **9**) et avons étudié leur activité de réversion de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter aerogenes*, dans le cadre d'une étude RSA basée sur les variations de substituants et celles du noyau central.

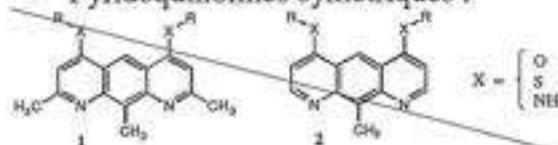
Les pyridoquinolines symétriques (**1**, **2**) ont une meilleure activité antimalarique que leurs homologues dissymétriques (**4**), mais ces dernières sont plus sélectives et présentent une meilleure activité sur souche chloroquinorésistante que sur souche chloroquinosensible.

Les résultats préliminaires sur des souches d'*Enterobacter aerogenes* exprimant un mécanisme d'efflux (et expulsant les quinolones) ont montré la capacité de ces molécules à restaurer la sensibilité cellulaire aux cytotoxiques.

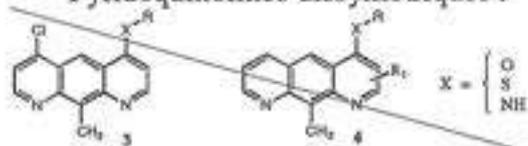
La série **3** (analogues structuraux de la chloroquine) a montré une bonne capacité à restaurer la sensibilité à ce médicament.

D'autre part, les dérivés quinoléiniques (**5**, **6**, **7**) et quinazolines (**9**) ont montré une activité intéressante en particulier comme inhibiteurs de la résistance aux antibiotiques des bactéries

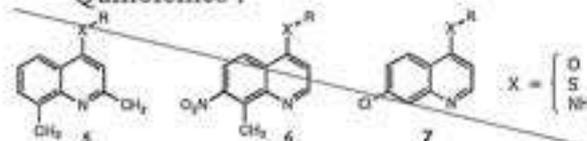
### - Pyridoquinolines symétriques :



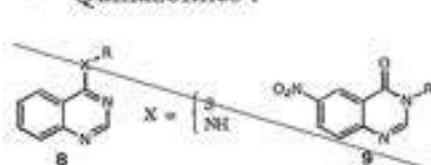
### - Pyridoquinolines dissymétriques :



### - Quinoléines :



### - Quinazolines :



**L'INTERACTION DE Cr(VI) AVEC LA MITOCHONDRIE ENTRAINE UNE ALTERATION DU METABOLISME CONDUISANT A LA MORT DE FIBROBLASTES DE DERME HUMAIN.**

W. LIU, F. CHASPOUL, L. DECOME et P. GALLICE

Université de la Méditerranée  
Laboratoire PRNT - EA 1784 - IFR PMSE 112  
Faculté de Pharmacie - 27, bd Jean Moulin - 13385 Marseille Cedex 05

L'exposition aux sels de chrome est à l'origine de cancers cutanés, de dermatites de contact et de pathologies de l'appareil respiratoire. De nombreux travaux montrent que la toxicité du chrome et en particulier de Cr(VI) s'exerce par l'atteinte de cibles multiples. Malgré les récents progrès dans la connaissance de la toxicité de ce métal, les mécanismes d'action spécifiques mis en jeu restent méconnus. En effet, les effets cytotoxiques mutagènes et cancérigènes de Cr(VI) ont été associés à des altérations de systèmes cellulaires complexes sans toutefois déterminer s'il existait un lien ou pas entre ces différentes interactions. Dans le présent travail, le métabolisme cellulaire global de fibroblastes de derme humains est déterminé par microcalorimétrie isotherme de flux. L'exposition de ces cellules à Cr(VI) entraîne une diminution du métabolisme conduisant à la mort cellulaire. Cette effet délétère, fonction de la concentration (0-500 $\mu$ M), est caractérisé par une IC<sub>50</sub> = 29 $\pm$ 4  $\mu$ M. Ce résultat en parfait accord avec la viabilité cellulaire estimée en mesurant la décomposition du sel de tétrazolium WST-1 par la déshydrogénase mitochondriale des fibroblaste vivants (IC<sub>50</sub> = 30 $\pm$ 5  $\mu$ M) suggère fortement que l'altération du métabolisme est associée à un dysfonctionnement des mitochondries organites cellulaires « usines énergétiques de la cellule ». En effet, la fonction princeps de la mitochondrie étant de synthétiser l'ATP moyennant la consommation d'O<sub>2</sub>, on conçoit qu'une altération de cette respiration et/ou la diminution de la production d'ATP puisse induire une altération du métabolisme cellulaire. C'est pourquoi les mesures de la respiration cellulaire par oxymétrie ont été réalisées. Les résultats obtenus montrent que Cr(VI) entraîne une inhibition significative de la consommation d'oxygène des fibroblastes et que cette diminution est dose dépendante (IC<sub>50</sub> = 66 $\pm$ 9  $\mu$ M). Cette étude fondée sur la bioénergétique cellulaire démontre que Cr(VI) exerce une effet cytotoxique en altérant la respiration mitochondriale dont la résultante est une perturbation du métabolisme cellulaire suffisamment importante pour induire la mort des fibroblastes. Cette approche originale permet donc de relier un effet cytotoxique de Cr(VI) à son interaction avec une cible subcellulaire. La poursuite de ce travail sera axée sur l'étude du mécanisme d'action pour déterminer si Cr(VI) exerce un effet direct au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale ou, indirect impliquant la formation d'adduits à l'ADN.

## Laboratoire de Chimie Générale et Minérale

UFR Pharmacie - 15 Av. Charles Flahault - BP 14 491  
34093 MONTPELLIER Cedex 5

☎ : 04.67.54.80.80  
☎ : 04.67.54.80.82

### Personnel

TEROL Alain	Pr	alain.terol@univ-montpl.fr
BOUDEVILLE Philippe	Pr	philippe.boudeville@univ-montpl.fr
CHAUVET Alain	MCU	alain.chauvet@univ-montpl.fr
DURAND Denis	MCU	denis.durand@univ-montpl.fr
JEANJEAN Bernard	MCU	bernard.jeanjean@univ-montpl.fr
NURIT Josiane	MCU	josiane.nurit@univ-montpl.fr
PAUVERT Bernard	Technicien	bernard.pauvert@univ-montpl.fr
DES Géraldine	Adjoint Technique	geraldine.des@univ-montpl.fr
ROMIEU Guilhem	Doctorant	
WIRSKASA Saleh	Doctorant	
BROUILLET Fabien	Doctorant	

### Activité d'enseignement

#### Pharmacie

- 1<sup>ère</sup> année Cours et TD de Chimie Physique Générale  
Culture Générale Scientifique ▶ Journées d'Accueil, d'Information et d'Orientation  
▶ Méthodologie : 10 Conférences - Débats  
▶ Histoire et Philosophie des Sciences - Actualité (20 Conférences)
- 2<sup>ème</sup> année Cours et TD de Chimie Minérale  
TP de Chimie Physique Générale (Initiation à la Sécurité - Initiation à la Communication)
- 3<sup>ème</sup> année *Certificat de Maîtrise* :  
▶ Cours, TD et TP : Méthodes d'Analyse et Contrôle Qualité  
▶ Cours, TD et TP : Mise en forme et Biodisponibilité des Médicaments  
*Unité de Valeur*  
▶ Cours Botanique et Pharmacie Industrielle (et 4<sup>ème</sup> année)
- 5<sup>ème</sup> année Cours d'Oxygénothérapie - Aérosolthérapie  
*Unité de Valeur*  
▶ Formation à la Communication dans le Milieu Professionnel
- DESS : Substances Naturelles et Valorisation, Biochimie Structurale  
CES Internat Gaz médicinaux, Pharmacologie, contrôles Pharmacopée  
*Diplôme d'université* ▶ Cours : Documentation et Communication Scientifiques

#### IUP Ingénierie de la Santé

- 1<sup>ère</sup> année (L2) Cours et TD de Chimie Physique Générale
- 2<sup>ème</sup> année (L3) ▶ Cours, TD et TP : Méthodes Physico-Chimiques d'Analyse  
▶ Cours : Hygiène - Sécurité et Environnement Industriel
- 3<sup>ème</sup> année (M1) Cours, TP : Stabilité Médicaments - Polymorphisme et Biodisponibilité  
Interactions PA-PA, PA-excipients, Pharmacopée, CTD

### Activités de recherche

Les Enseignants-Chercheurs et doctorants du Service de Chimie Générale et Minérale sont rattachés à deux équipes de recherche différentes

- P. Boudeville et G. Romieu : Centre de Recherche sur les Biopolymères Artificiels, CRBA, UMR CNRS 5473, Directeur Dr Michel Vert.

Thèmes abordés :

- Mise au point et études physico-chimiques de ciments et céramiques à base de phosphate de calcium et de strontium à usages orthopédiques et dentaires.
- Synthèse mécano-chimique à sec d'apatites et de phosphates d'alcalinoterreux d'intérêt thérapeutique
- Développement de biomatériaux composites minéraux/polymères ou polymères/minéraux.

1. J. Nurit et D. Durand : Génie des Procédés d'Elaboration des Bioproduits, UMR-CIRAD 016

Thèmes abordés :

- Physicochimie de l'état solide divisé de substances d'intérêt thérapeutique
- Valorisation de substances naturelles

### Collaborations

- Laboratoire de Microbiologie, UFR Odontologie – Montpellier
- Centre de Recherche en Ingénierie Biomédicale (CREB), Université Polytechnique de Catalogne, Barcelone

### Publications récentes

- \* S. Serraj, P. Michalesco, J. Margerit, B. Bernard and P. Boudeville. Study of a hydraulic calcium phosphate cement for dental application. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2002;13:125-131.
- \* H. El Briak, D. Durand, J. Nurit, S. Munier, B. Pauvert and P. Boudeville. Study of a hydraulic dicalcium phosphate dihydrate / calcium oxide-based cement for dental applications. *J. Biomed. Mater. Res., Applied Biomater.*, 2002; 63: 447-453.
- \* J. Nurit, J. Margerit, A. Terol and P. Boudeville. pH-metric study of the setting reaction of monocalcium phosphate monohydrate/calcium oxide-based cements. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2002;13:1007-1014.
- \* M. Kouassi, P. Michalesco and P. Boudeville. Antibacterial effect of a MCPM / CaO-based calcium phosphate cement for dental applications. *J. Endodontics.*, 2003;29:100-103.
- \* P. Michalesco and P. Boudeville. Calibrated latex microsphere percolation: a possible route to model endodontic bacterial leakage. *J. Endodontics*, 2003;29:456-462.
- \* H. El Briak-BenAbdeslam, C. Mochales, M.P. Ginebra, J. Nurit, J.A. Planell and P. Boudeville. Dry mechanochemical synthesis of hydroxyapatites from dicalcium phosphate dihydrate and calcium oxide: a kinetic study. *J. Biomed. Mater. Res.*, 67A (2003) 927-937.
- \* H. El Briak BenAbdeslam, C. Mochales, M.P. Ginebra, J. Nurit, J.A. Planell, P. Boudeville. Dry mechanochemical synthesis of strontium-containing hydroxyapatite from DCPD+CaO+SrO. *Key Engineer Mater*; Vols 254-256, Trans Tech Publications Switzerland. 2004, pp. 103-106.
- \* C. Mochales, El Briak BenAbdeslam, M.P. Ginebra, P. Boudeville, J.A. Planell, Obtention of silicated-substituted calcium deficient hydroxyapatite by dry mechanochemical synthesis. *Key Engineer Mater*; Vols 254-256, Trans Tech Publications Switzerland. 2004, pp. 107-110.
- \* S. Munier, H. El Briak, D. Durand, P. Boudeville. Diffusion of ions from a calcium phosphate cement for dental root canal treatment and filling. *Key Engineer Mater*; Vols 254-256, Trans Tech Publications Switzerland. 2004, pp. 615-918.
- \* H. El Briak BenAbdeslam, C. Mochales, J.A. Planell, M.P. Ginebra, P. Boudeville. Influence of water addition on the kinetics of mechanochemical synthesis of hydroxyapatites from DCPD and CaO. *Key Engineer Mater*; Vols 254-256, Trans Tech Publications Switzerland. 2004, pp. 931-934.

- \* C. Mochales, H. El Briak-BenAbdeslam, M.P. Ginebra, A. Terol, J.A. Planell and P. Boudeville. Dry mechanochemical synthesis of hydroxyapatites from DCPD and CaO: influence of instrumental parameters on the reaction kinetics. *Biomaterials*, 25 (2004) 1151-1158.
- \* P. Michăilescu, M. Kouassi, H. El Briak, A. Armynot, P. Boudeville. Antimicrobial activity of a DCPD / CaO-based calcium phosphate cement for root canal filling. *J. Biomed. Mater. Res., Applied Biomater*, 74B (2005) 760-767.
- \* H. El Briak, D. Durand, B. Pauvert, A. Terol and P. Boudeville. Study of a hydraulic DCPA/CaO-based cement for dental applications. *J. Biomed. Mater. Res., Applied Biomater.*, en cours de révision après première expertise.
- \* P. Boudeville, S. Munier, M. Vert. Ciment hydraulique phospho-strontio-calcique injectable, utile comme substitut osseux. Brevet FR 0404714, 2005 extension CTD WO 115488/2005

Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM)- UMR CNRS 5247  
Directeur Pr. Jean Martinez

Laboratoire : Centre de Recherche sur les Biopolymères Artificiels (CRBA)  
Pr. Jean Coudane,

Philippe Boudeville	Pr	Mahfoud Bouatta	IR CNRS
Dominique Domurado	CR INSERM	Vincent Darcos	IE CNRS
Abdelsalam El Ghzaoui	MCU	Martine Domurado	IE UM1
Henri Garreau	MCU	Xavier Dumont	AT CNRS
Xavier Garric	MCU	Muriel Elkaïm	Tech CNRS
Robert Engel	MCU	Sylvie Hunger	Tech UM1
Laurent Leclerc	CR CNRS	Cédric Paniagua	AI CNRS
Suming Li	CR CNRS		
Michel Vert	DR CNRS		

Doctorants :

Anne Bénard, Héléne Nouailhas, Johan Rixte, Guilhem Romieu, Héléne Van den Berghe

Activités d'Enseignement

Parcours professionnel IUP Ingénierie de la Santé :

L3 (125h eq TD) : Bases sur les polymères, synthèses propriétés, applications dans le domaine pharmaceutique

M1 (310h eq TD) : Filière 1 (R&D/production de produits de santé) : Spécialité « Polymères d'intérêt thérapeutique »

M2 (310h eq TD) : Management de Projet en R&D et Production de Produits de Santé : Médicament, Cosmétique, Aliment, santé. Option 2 : Systèmes Polymères Médico-thérapeutiques et Management de projet

Pharmacie

2<sup>ème</sup> année de Pharmacie : Enseignements dirigés de Chimie Minérale

UE de 3<sup>ème</sup>/4<sup>ème</sup> années : « Polymères à usage pharmaceutique et biomédical » (100h eqTD).

En prévision (rentrée 2008)

4<sup>ème</sup> année : bases sur les polymères à intérêt pharmaceutique

5<sup>ème</sup> année (pharmacie industrielle) : polymères vecteurs de principes actifs

Master 2 Recherche « Biologie Santé » de l'Université de Montpellier 1

Parcours médicament : Les vecteurs polymères de principes actifs, ingénierie tissulaire.

Master « Ingénierie Biomoléculaire » de l'Université de Montpellier 2

Master 1 : UE « chimie Macromoléculaire fine »

Master 2 : UE « Biopolymères Artificiels et le vivant »

### Recherche

Les activités de recherche sont à l'interface chimie/biologie centrées sur l'Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), et plus particulièrement sur l'équipe du Centre de Recherche sur les Biopolymères Artificiels (CRBA).

L'IBMM vise à la mise en œuvre des outils de la chimie moléculaire pour apporter des réponses à des problèmes biologiques, étudier les mécanismes d'action des biomolécules et amener au développement les composés prometteurs issus de sa recherche dans le domaine du médicament et des produits phytosanitaires. Le CRBA est un laboratoire de l'IBMM situé à la Faculté de Pharmacie : c'est une équipe de recherche reconnue pour ses activités sur les polymères dégradables pour applications médicales.

Les principaux domaines de recherche du CRBA sont centrés sur les thèmes suivants : Les polymères d'intérêt thérapeutique, les drogues et prodrogues macromoléculaires, la biodégradation et le devenir des polymères dans le milieu vivant, les polymères adaptatifs, la radiosynthèse et la modification chimique des polymères, les polyélectrolytes multifonctionnels.

#### Publications 2006

- 1.He, Y., Fan, Z., Wei, J. & Li, S. Morphology and melt crystallization of poly(L-lactide) obtained by ring opening polymerization of L-lactide with zinc catalyst. *Polymer Engineering and Science* **46**, 1583-1589 (2006).
- 2.Huang, M. H., Li, S., Huttmacher, D. W., Coudane, J. & Vert, M. Degradation characteristics of poly( $\epsilon$ -caprolactone)-based copolymers and blends. *Journal of Applied Polymer Science* **102**, 1681-1687 (2006).
- 3.Li, S. in *Scaffolding in Tissue Engineering* (eds. Ma, P. X. & Elisseeff, J.) 335-352 (CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2006).
- 4.Nottelet, B., Coudane, J. & Vert, M. Synthesis of an X-ray opaque biodegradable copolyester by chemical modification of poly( $\epsilon$ -caprolactone). *Biomaterials* **27**, 4948-4954 (2006).
- 5.Nublats, C., Braud, C., Garreau, H. & Vert, M. Ammonium bicarbonate as porogen to make tetracycline-loaded porous bioresorbable membranes for dental guided tissue regeneration: failure due to tetracycline instability. *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition* **17**, 1333-1346 (2006).
- 6.Ogaki, R. et al. G-SIMS of biodegradable homo-polyesters. *Applied Surface Science* **252**, 6797-6800 (2006).
- 7.Saulnier, B., Coudane, J., Garreau, H. & Vert, M. Hydroxyl-bearing poly( $\alpha$ -hydroxy acid)-type aliphatic degradable polyesters prepared by ring opening (co)polymerization of dilactones based on glycolic, gluconic and L-lactic acids. *Polymer* **47**, 1921-1929 (2006).
- 8.Stefani, M., Coudane, J. & Vert, M. In vitro ageing and degradation of PEG-PLA diblock copolymer-based nanoparticles. *Polymer Degradation and Stability* **91**, 2554-2559 (2006).
- 9.Stefani, M., Coudane, J. & Vert, M. Effects of polymerization conditions on the in vitro hydrolytic degradation of plaques of poly(DL-lactic acid-block-ethylene glycol) diblock copolymers. *Polymer Degradation and Stability* **91**, 2853-2859 (2006).
- 10.Vera, M., Puiggali, J. & Coudane, J. Microspheres from new biodegradable poly(ester amide)s with different ratios of L- and D-alanine for controlled drug delivery. *Journal of Microencapsulation* **23**, 686-697 (2006).
- 11.Vert, M. in *La Chimie Verte* (ed. Colonna, P.) 205-212 (Lavoisier, Londres - Paris - New York, 2006).
- 12.Vert, M. Polymères et biologie - Biodégradation, bioactivité et applications thérapeutiques biomédicales. *Actualité Chimique* **300**, 36-39 (2006).

## *In vivo* evaluation of PLA<sub>50</sub>-PEO-PLA<sub>50</sub> scaffold as wound healing dressing: Angiogenesis and tissue integration

X. Garric<sup>1\*</sup>, J.P. Molès<sup>2</sup>, D. Casellas<sup>3</sup>, J. Coudane<sup>4</sup> and M. Vert<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Max Mousseron Biomolecules Institute, University Montpellier I - CNRS, Faculty of Pharmacy, 15 Avenue Charles Bahault, 34093 Montpellier Cedex 5, France

<sup>2</sup> Laboratory of Molecular Dermatology, IURC-University of Montpellier I, France.

<sup>3</sup> Groupe Rein et Hypertension, IURC-University of Montpellier I, France

xavier.garric@univ-montp1.fr

Enhancing dermal tissue regeneration has significant implications for patients suffering from large skin defects and chronic non-healing wounds. Attempts to produce new and more effective treatments have thus far been less than satisfactory[1]. One of the approaches consists in using bioresorbable polymers to develop dermal substitutes with characteristics closely resembling those of the tissues to restore. Poly( $\alpha$ -hydroxy-acid)s derived from lactic (LA) are bioresorbable polymers which present a great variability of mechanical properties, hydrolytic degradation rates and surface compositions[2]. These properties appear to be of great interest in tissue engineering, including skin reconstruction.

The aim of this study was to evaluate the compatibility of a PLA<sub>50</sub>-PEO-PLA<sub>50</sub> scaffold with wound healing process. We synthesized the triblock copolymer and we prepared a polymer scaffold by salt leaching method[3]. Then, a set of experiments was performed to investigate whether this scaffold was colonized by vascular cells and surrounding tissues.

PLA<sub>50</sub>-PEO-PLA<sub>50</sub> copolymer was synthesized by ring opening polymerization and characterized by Size Exclusion Chromatography and <sup>1</sup>H NMR. Ammonium-bicarbonate crystals were used as porogen additive to prepare macroporous polymer scaffolds and the porosity was observed by ESEM. Polymer scaffolds were implanted in Nude mice according two techniques [4]. The first one consisted in the implantation of porous scaffold in inguinal fold. The evaluation of vascular colonization was obtained by immunostaining of arteries and veins.

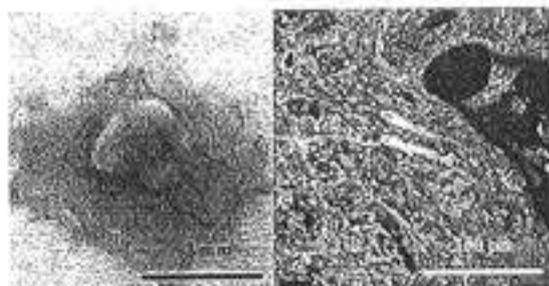


Figure 1: Polymer scaffold at day 28 implanted in inguinal fold and immunostaining of arteries

The second technique consisted in the engraftment of polymer scaffold on a mouse back in order to assess wound healing and tissue integration by using immunohistochemistry.

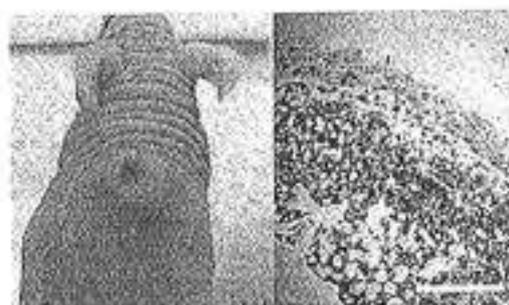


Figure 2: Integration into mice backs and immuno-histochemistry of PLA<sub>50</sub>-PEO-PLA<sub>50</sub> scaffold colonized by surrounding tissues.

Data showed the formation of a macroporous PLA<sub>50</sub>-PEG-PLA<sub>50</sub> scaffold, which has a highly interconnected open-pore structure. This PLA<sub>50</sub>-PEG-PLA<sub>50</sub> scaffold was used as a support of colonization for surrounding tissues. After implantation in inguinal fold for a period of 28 days, we visualized a vascular network composed of arterioles (stained with an antibody specifically directed against smooth muscle cells) and veins detected with isolectin drip (Fig.1). We also studied the integration of scaffold into a mouse back and we observed a very effective wound closing (Fig.2).

As a conclusion, this work highlighted that a PLA<sub>50</sub>-PEO-PLA<sub>50</sub> scaffold could be a support for *in vivo* angiogenesis and tissue integration. It confirms that these types of scaffold are good candidate for skin tissue engineering and especially for help to wound healing.

### References

1. Ehrenreich M, Ruszczak Z. Update on tissue-engineered biological dressings. *Tissue Engineering* 2006 Sep;12(9):2407-2424.
2. Vert M, Schwach G, Coudane J. Present and Future of PLA Polymers. *Journal of Macromolecular Science Pure and Applied Chemistry* 1995;A32:787-796.
3. Lin HR, Kuo CJ, Yang CY, Shaw SY, Wu YJ. Preparation of macroporous biodegradable PLGA scaffolds for cell attachment with the use of mixed salts as porogen additives. *Journal of Biomedical Materials Research* 2002 Jun 5;63(3):271-279.
4. Norrby K. *In vivo* models of angiogenesis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2006 Jul-Sep;10(3):588-612.



# Biomatériaux composites Phosphates de calcium-strontium / Polymères



Objectif : Obtention de nouveaux biomatériaux alliant les propriétés spécifiques de ces deux classes de matériaux

## 1) Ciment hydraulique injectable à usages orthopédiques

Brevet Fr 0404714, 2004 P. Bouderville, S. Munier et M. Vert

### Choix du strontium et du PLAGA

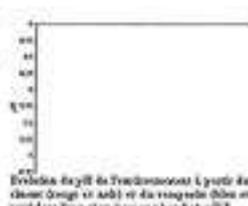
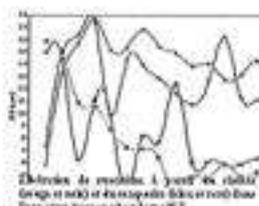
Sélecter la dégradation et l'implant et l'ostéogénèse

Strontium

- présent naturellement dans la phase minérale des os,
- remplace facilement le calcium dans l'os,
- stimule l'activité des ostéoblastes,
- renforce la solidité de l'os,
- plus radio-opaque que le calcium.

Poly(acide lactique-co-glycolique) PLAGA

- polymère rapide et bio-dégradable,
- libération d'acides qui dissolvent la phase minérale,
- création de macroporosité interconnectée au fur et à mesure de sa dégradation sans perte de résistance initiale.



Evolution de la porosité de l'implant de ciment (orange) et du composite (bleu) en fonction du temps et du temps de polymérisation.

### Composition du ciment

Phase solide

Minérale : 4 CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O + 2,5 CaO + 1,5 SrCO<sub>3</sub> (68%)

Polymère : microsphères (125-250 µm) PLAGA 71/23 (40%)

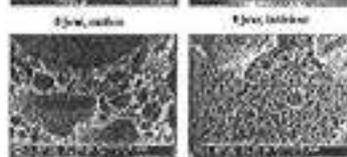
Phase liquide

Tempon phosphate d'ammonium 0,75 M, pH 7

Caractéristiques mécaniques du ciment et du composite

Microsphères PLAGA (µm)	σ (MPa)	ε (%)
125	8,7	2,6
Résistance à la compression (MPa)	24,8 ± 2	1,4 ± 0,2
Elasticité à la rupture (GPa)	1,2 ± 0,2	
Temps de prise (min)	10 ± 2	13
Temps d'ajustement (min)	30	10 ± 2
Temps de mise en service (min)	40 ± 2	40
Elongation à la rupture (%)	12 ± 1	

Dégradation in vitro du composite dans l'eau



Essais in vivo sur lapin en cours

### Utilisations potentielles

Ciment seul : vertébroplastie

Composite : comblement de défauts osseux

<sup>90</sup>Sr remplaçable par <sup>89</sup>Sr pour radiothérapie localisée

Polymère chargé d'un facteur de croissance ou d'un anti-mitotique

## 2) Ciment hydraulique injectable antimicrobien, radio-opaque et expansif pour le traitement et le comblement des canaux radiculaires

### Principe

L'hydroxyde de calcium est utilisé en endodontie pour la désinfection des canaux radiculaires : antiseptique, anti-inflammatoire, spécifique et induction bactérienne locale au point d'application. Inconvénients : pas de prise, extraction et stabilité non seule à température ambiante.

### Ciment DCPD-CaO 2,5

6 CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O + 4 CaO + Ca<sub>10</sub>(PO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub> + 14 H<sub>2</sub>O (Ca/P = 1,67)

Si excès de CaO : 6 CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O + 9 CaO + Ca<sub>10</sub>(PO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub> + 9 Ca(OH)<sub>2</sub> + 9 H<sub>2</sub>O (Ca/P = 2,5)

Hydroxyapatite : assure la prise et la résistance et la tenue dans le temps du ciment.

Hydroxyde de calcium : activité antimicrobienne et induction tissulaire.

Hydratation de CaO en Ca(OH)<sub>2</sub> : expansion (3-5%).

Inconvénient de ce ciment : indice radio-opaque que la dentine et mauvaise tenue sur un dentule.

### Ciment OP3

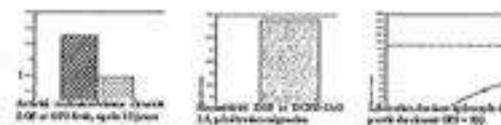
Radio-opaque grâce à l'introduction de strontium.

Bonne tenue sur le dentule grâce à l'addition d'un polymère (5%).

Dossier de demande de validation en cours de rédaction.

### Utilisation

Désinfection et obturation permanente simultanées des canaux radiculaires avec application simple au dentule et sans recours obligatoire à des états de guta-percha.



## 3) Préparation par mécanosynthèse de phosphates de calcium substitués

Mécanosynthèse : réactions induites par broyage à haute énergie et à sec de poudres ayant un caractère acide et basique.

Préparation de phosphates de calcium partiellement substitués par carbonate, silicate, fluorure, strontium...

Etude cinétique des réactions mécano-chimiques pour l'optimisation du procédé et étude du mécanisme.

Objectifs : incorporation dans des polymères de composites radio-opaques, variation de leurs propriétés mécaniques.

Ont participé à ces travaux

DEA et Doctorants : S. Munier (Pharm, 2003), E. Castany (Ch Dent, 2005), G. Romieu (Ch Dent, 2005, continue en thèse), M. Kouassi (Ch Dent, thèse 2002), H. El Briak (Chim, thèse 2003), H. El Briak-benAbdelham (Chim, thèse 2004).

Enseignants et chercheurs : P. Bouderville, M. Vert, H. Garreau, S. Li, C. Braud, P. Michalless.



**Laboratoire de Chimie Physique  
et Microbiologie pour L'Environnement**  
*UMR CNRS UHP Nancy 1 7564*

<i>Activité de Recherche</i>	<i>Activité d'Enseignement</i>
<p><b>Thématique :</b></p> <p>* Etude de la régulation des thiols cellulaires dans les phénomènes d'adhésion et d'agrégation des microorganismes (<i>glutathion et ses métabolites, enzymes associées</i>)</p> <p>* Développement de méthodologies pour la mesure <i>in situ</i> de marqueurs du stress oxydant (<i>sondes fluorescentes, méthodes séparatives, microscopie</i>)</p> <p><b>Membres de l'Equipe :</b></p> <p>Pr Pierre LEROY, <i>Chimie Physique ; 39<sup>ème</sup> section</i></p> <p>Dr Joël COULON, <i>MCU Biochimie microbienne ; 41<sup>ème</sup> section</i></p> <p>Dr Stéphanie MARCHAND, <i>MCU Analyse et métrologie des biomarqueurs ; 39<sup>ème</sup> section</i></p>	<p><i>1<sup>ère</sup> année :</i> Chimie Physique Générale (<i>cours, TD</i>) Systèmes Chimiques Hétérogènes (<i>cours, TD</i>)</p> <p><i>2<sup>ème</sup> année :</i> Initiation à la manipulation (<i>TP</i>) Chimie Générale et Minérale (<i>cours, TD, TP</i>)</p> <p>Master Pro Génie Protéique</p> <p><b>Enseignants :</b></p> <p>Pierre LEROY, <i>Chimie Physique ; 39<sup>ème</sup> section</i></p> <p>Jean-Claude CHEVIN, <i>Chimie Minérale ; 39<sup>ème</sup> section</i></p> <p>Stéphanie MARCHAND, <i>Analyse et métrologie des biomarqueurs ; 39<sup>ème</sup> section</i></p> <p>Sébastien KREMEL, <i>Moniteur</i></p>

PUBLICATIONS INTERNATIONALES A COMITE DE LECTURE 2006-2007

CONRAD A., CADORET A., CORTEEL P., LEROY P. and BLOCK J.C.

Adsorption/desorption of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) and azoproteins by/from activated sludge flocs  
Chemosphere, 2006, 62, 53-60.

LEWICKI K., MARCHAND S., MATOUB L., LULEK J., COULON J. and LEROY P.

Development of a fluorescence-based microtiter plate method for the measurement of glutathione in yeast  
Talanta, 2006, 70, 876-882.

GLOWKA E., LAMPRECHT A., UBRICH N., MAINCENT P., LULEK J., COULON J. and LEROY P.

Enhanced cellular uptake of a glutathione selective fluorogenic probe encapsulated in nanoparticles  
Nanotechnology, 2006, 17, 2546-2552.

COULON J., MATOUB L., DOSSOT M., MARCHAND S., BARTOSZ G. and LEROY P.

Potential relationship between glutathione and flocculation phenomenon in the yeast *Kluyveromyces lactis*  
FEMS Yeast Res., 2007, 7, 93-101.

BERAUD E., COTELLE S., LEROY P. and FERARD J.F.

Genotoxic effects and phytochelatin induction in presence of cadmium in *Vicia faba* roots  
Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis,  
accepté pour publication

GUEGUEN S., LEROY P., GUEGUEN R., SIEST G., VISVIKIS S. and HERBETH B.

The Lipoprotein Lipase Serine 447 Stop Polymorphism Is Associated with Altered Serum Carotenoid Concentrations  
J. Am. Coll. Nutr., 2006, accepté pour publication