HAL
open science

Synthèse, Modifications Chimiques, Déterminations de Structures dans le Domaine des Sucres, des Glycosides et des Polysaccharides

Christophe Bliard

▶ **To cite this version:**

Christophe Bliard. Synthèse, Modifications Chimiques, Déterminations de Structures dans le Domaine des Sucres, des Glycosides et des Polysaccharides. Chimie organique. Université de Reims Champagne Ardenne URCA, 2001. tel-02102357

HAL Id: tel-02102357

https://hal.science/tel-02102357v1

Submitted on 17 Apr 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UMR6013

Christophe BLIARD

Titres et travaux

HDR

Synthèse, Modifications Chimiques, Déterminations de Structures dans le Domaine des Sucres, des Glycosides et des Polysaccharides

BLIARD
15/06/2001

Résumé

Dans ce mémoire sont présentés les titres et travaux du Dr Christophe Bliard consistant en l'étude des carbohydrates, tant des monosaccharides comme oligo- et polysaccharide dans le but de présenter ses travaux en vue d'obtenir l'habilitation à diriger des recherches. Pendant sa formation comme chercheur M. Bliard a travaillé dans le domaine de la synthèse des monosaccharides modifiés en vue de l'obtention d'analogues d'antibiotiques, particulièrement des analogues fluorés. Pendant le développement de ce travail il a été confronté avec la problématique de la synthèse organique la plus performante. Déjà comme chercheur autonome il a développé d'intéressantes méthodes de glycosylation en vue d'obtenir des oligosaccharides, et progressivement il a évolué vers un domaine extrêmement intéressant et d'une grande complexité qui est la caractérisation structurale des biopolymères, et son utilisation comme substrats de départ dans la préparation matériaux pour des applications spécifiques.

Cette variété de sujets a conféré au candidat une culture scientifique étendue dans le domaine de la chimie des carbohydrates, qui est le reflet d'une remarquable ouverture d'esprit. Dans les études actuellement en cours, il est un protagoniste important, où il met en avant ses capacités à s'impliquer dans de nouveaux problèmes de recherche.

En matière de production scientifique, elle s'avère abondante et régulière, au cours de 15 années d'activité: outre, un chapitre d'ouvrage 14 articles originaux ont été publiés, dont 4 en premier auteur, les plus fréquemment dans des revues internationales de tout premier plan, publications auxquelles s'ajoutent encore 2 articles soumis pour publication. Pour mieux calibrer sa production scientifique il est nécessaire de considérer les changements fréquents des problèmes scientifiques auxquels il a été confronté pendant sa carrière, aspect qui a sans doute limité la production.

En résumé, la rigueur scientifique et la pertinence méthodologique, la diversité des problèmes scientifiques abordés, la capacité d'aborder et conduire des programmes de recherche, la perception du contexte socio-économique et la capacité de s'impliquer dans des problèmes qui le concernent, et les facultés d'encadrement sont des caractéristiques qui se détachent du curriculum de M. Bliard qui possède de toute évidence des compétences très sures en chimie des sucres, synthèse, modification chimique des oligo et polysaccharides, tant dans le domaine de la chimie thérapeutique que celui de la chimie des matériaux.

Title :

Synthesis, Chemical Modifications, Structural Déterminations in the Domain of Carbohydrates, Glycosides and Polysaccharides

***Titres et travaux ***

Candidature à l'Habilitation à diriger des recherches

*****

Synthèse, Modifications Chimiques, Déterminations de Structures dans le Domaine des Sucres, des Glycosides et des Polysaccharides

Christophe BLIARD

*****

Reims, 15 Juin 2001

Membres du Jury

Pr S. Castillon	Rapporteur
Dr J. Josefonvicz	Rapporteur
Dr. S. Perez	Rapporteur
Pr Y. Couturier	
Pr. Ch. Portella	
Dr. J. M. Nuzillard	

Université de Reims Champagne – Ardenne
UMR 6013 CNRS – URCA
Laboratoire de Pharmacognosie
Bât. 18, Moulin de la Housse
51 687 Reims cedex 2

I - *Curriculum vitae*

Nom : Bliard
Prénom : Christophe
Né le : 24 décembre 1959 à Epernay (51)
Situation de famille : Marié, 2 enfants
Adresse personnelle : 138 Bvd. Pommery, Reims 51100
Tel : 03 26 50 26 59 / 06 21 04 08 89
Fonction et grade : Chargé de recherche 1ère classe au CNRS

Adresse professionnelle :

Unité mixte de recherche associée CNRS / URCA UMR 6013.
Laboratoire de Pharmacognosie
CPCB Europol'Agro Bât. 18
Moulin de la Housse BP1039
51097 - REIMS Cedex 2
Tél. : 03 26 91 34 95 - Fax : 03 26 91 35 96
E-mail : christophe.bliard@univ-reims.fr

Appartenance à un corps professionnel :

Membre de la société Française de Chimie depuis 1990

Emplois :

2000-2001 : Chargé de recherche 1ère classe au laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Reims Champagne-Ardenne - UMR 6013 CNRS-URCA CPCB Europol'Agro Bât. 18 Moulin de la Housse.

1994-2000 : Chargé de recherche 1ère classe au laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Reims Champagne-Ardenne - UPRESA CNRS 6013 CPCB Europol'Agro Bât. 18 Moulin de la Housse, URCA.

1991-94 : Chargé de recherche contractuel 2ème classe titulaire au laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, URA 492 au CNRS - Faculté de Pharmacie.

1990-91 : Recruté **chargé de recherche stagiaire 2ème classe** au laboratoire de Pharmacognosie Université de Reims Champagne-Ardenne, URA 492 au CNRS - Faculté de Pharmacie.

1989-90 : Contrat post-doctoral à Queen's University (Kingston -Ontario - Canada, Chemistry dep.) dans le groupe de recherche du Professeur W. A. Szarek. " *Synthèse de glycopeptides inhibiteurs de hyaluronase ".* Ce travail, effectué en collaboration avec la Société Upjohn, avait pour but le développement de composés actifs dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.

1988-89 : Contrat post-doctoral à Queen's University (Kingston -Ontario - Canada dep. of Chemistry & dep. of Medicine) dans le groupe de recherche du Professeur W. A. Szarek " *Synthèse de glycoprotéines modifiées pour la vectorisation de principes actifs dans le traitement du cancer du foie.*" Travail effectué en collaboration avec le Dr. W. T. Depew , St. Mary Hospital.

Divers : BAFA, Langues : bilingue francais-anglais, compréhension courante de l'espagnol, bases d'allemand, notions de portugais, d'italien, de hongrois et de chinois ; soufflage de verre, apiculture et direction du Groupe A-Cappella Barbershop " *The Champagne Quaffers* ".

II- Formation

1985-87 : Doctorat de Chimie Organique, Thèse de l'Université de Paris XI (Nouveau régime). Dir. de Thèse : Dr. G. Lukacs, Institut de Chimie des Substances Naturelles UPR 2301 CNRS Gif/Yvette 91190, *" Synthèse d'hydrates de carbone, de sucres fluorés et d'analogues d'Avermectine "*

Jury composé de :
Pr. M. Vilkas (Université de Paris XI, Orsay)
Pr. A. Lubineau (Université de Paris XI, Orsay)
Pr. L. Szabo (Université de Paris XI, Orsay)
Dr. A.Olesker (ICSN CNRS, Gif/Yvette)/po
Dr. G. Lukacs (ICSN CNRS, Gif/Yvette)
Dr. D. Lucas (S^{té}. ORIL, Bolbec)

1985 : Stage doctoral (2 mois) dans le laboratoire du Pr. A.C.Richardson, King's University, London, financé par le British Council, *"Synthesis of glycoconjugates for ELISA tests"*

1984-85 : DEA de Chimie Organique (Université de Paris XI, Orsay) ICSN Gif/Yvette, laboratoire du Dr. G. Lukacs, *" Synthèse de Nitro-sucres et d'analogues de la Daunosamine.*"

1983-84 : Service National dans le laboratoire d'analyse du centre hydrographique et océanographique de la Marine Nationale EPSHOM, Brest. Service Scientifique et Technique, " *Mise au point d'une méthode de traçage et d'identification par CPG des pétroles relargués en mer, provenant de marées noires ou de " dégazages sauvages "*

1982-83 : Maîtrise de Chimie Organique (Université de Paris XI, Orsay)

1983 : Stage industriel (2 mois) de maîtrise dans le laboratoire d'étude des lubrifiants industriels et automobiles du centre de recherche Mobil Oil. (N.D. de Gravenchon, Le Havre)

1981-82 : Licence de Chimie (Université de Paris XI, Orsay)

1978-80 : DUT Chimie (Université de Paris XI, Orsay)

1980 : Stage de 2ème année (2mois) : Laboratoire du Pr. C. Szantay, Polytechnical University -Organic Chemistry Institute- BUDAPEST (Hongrie) sous la direction du Pr. G. Kalaus, *" Synthesis of Indolic Alcaloïds of the indoloquinolizin family, precursors of (+) Eburnamonin " (Kalaus et al. J.Org. Chem. 1985, 50,3760-3767.)*

1979 : **Stage de 1ère année** (2 mois) : ICSN, CNRS de Gif/Yvette, Institut de Chimie des Substances Naturelles, *" Synthèse et métylation des allo- et mano-*

époxydes de méthyle précurseurs pour la synthèse de l'Erytromycine. " (Thèse S S. Costa Orsay 1981)

1978 : Baccalauréat - Série F_6 Chimie mention bien - Lycée Libergier, Reims.

III -Activités d'enseignement

1er cycle

- **1985-86 :** DUT de Chimie d'Orsay. TP formation continue 8H/semaine. *Journée continue Pilote et 1/2 grand : Synthèse extraction, purification , analyse.*

- **1988-89 :** Moniteur d'enseignement BA- Queen's University Kingston, 20H TP : *Resolution of racemic Phenylalanin.*

2ème cycle

- **1994-2000 :** CNAM - TP Spectroscopie 64H.

- **2000-01 :** CNAM - TP RMN 18H.

- **1997-98 :** DESS Extraction 3H CM.

- **1991-92 :** C2 Substances Naturelles Pharmacie 4H TD.

IV- Co-encadrements de thèse, DEA et encadrements de stages.

IV- 1 Post-Doctorat

- Dr. C. Joly : **1996-1997** post-doc *Modification et caractérisation physico-chimique de macromolécules d'origine végétale pour des applications dans le domaine des matériaux polymères* (recrutée Maître de Conférence par la 33ème section en juin 1997 à l'URCA de Reims). *80%*

IV- 2 Doctorats

- Serge Nazabadioko : *Synthèses d'oligosaccharides et hémisynthèses de saponines à acide oléanolique*. Thèse soutenue le 18 janvier **1996**. *80%*

- Benoît Laignel : *Synthèse, structure et propriétés d'amidons modifiés*. Thèse soutenue le 14 mars **1997**. *80%*

- Jérôme Delville : *Amidons photoréticulés, relations structure-propriétés.* 2ème année de thèse. *50%*

- Nadège Follain : *Photoréticulation et greffage de groupements destinés à modifier des propriétés physico-chimiques d'amidons en vue d'utilisations non alimentaires.* 1ère année de thèse. *50 %*

IV- 3 DEA

- Serge Nazabadioko : **1991-92** *Synthèse d'oligosaccharides gentiobioses à partir d'Amygdaline. 80%*

- Carol Landréat : **1993-94** *Glycosylation du L-Arabinose, applications à la synthèse de tensio-actifs. 10%*

- Olivier Durand : **1996-97** *Synthèse et structure d'acétates d'amidons*. *80%*

IV- 4 Autres encadrements

♦ Maîtrise de Chimie

- Mariata Mananjery : **1993-94** / Stage de Maîtrise Chimie, Reims *Hydrolyse enzymatique et hémisynthèse de saponines du ginseng.* 100%

- Frédérique Barbosa : **1993-94** / Stage de Maîtrise Chimie, Reims. *Synthèse de glycosides de benzyle, benzylidène, isopropylidène et modélisation moléculaire*. 100%

- Christophe Rémillon : **1994-95** / Stage de Maîtrise Chimie, Reims. *Synthèse de dérivés du xylitol, mannitol, hexoses et disaccharides, modélisation moléculaire.* 100%

- Marianne Réale : **1995-96** / Stage de Maîtrise Chimie, Reims. *Synthèse enzymatique de glycosides d'allyle et de benzyle.* 100%

- Stéphanie Meunier : **1995-96** / Stage de Maîtrise Chimie, Reims. *Hémisynthèses de monosaccharides.* 100%

- Carine Gallois : **1996-97** / Stage de Maîtrise Chimie Reims. *Séparation des polysaccharides constitutifs de l'amidon de blé.* 100%

♦ **MSBM**. (4ème année de pharmacie)

- Stanislas Beauvière : **1992-93** / Stage de 4ème année de Pharmacie, Reims. *Extraction d'Amygdaline de noyaux d'abricot et préparation d'intermédiaires pour la synthèse glycosidique*. 100%

- Olivier Pichelin : **1993-94** / Stage de 4ème année de Pharmacie, Reims. *Synthèse, extraction, purification et détermination de structure, de mono- et di-saccharides.* 100%

- Florence Cavellec : **1994-95** / Stage de 4ème année de Pharmacie, Reims. *Séparation HPLC d'acétyl glucidex, synthèse de dérivés trityl-maltose et chloroacétyl-glucose.* 100%

- Laurence Demazure : **1994-95** / Stage de 4ème année de Pharmacie, Reims. *Mise au point du dosage par HPLC de la saponine Rb1 dans la racine de Panax Quinquefollium L.* 100%

♦ **BTS**

- Arnaud Croix : **1996-97** - BTS AnaBioTech Lycée Thillois, Reims / Stage de 2ème année *Synthèse d'intermédiaires de construction d'un trisaccharide, extraction d'hédéragénine.* 100%

♦ **DUT**

- Benoît Mittoneau : **1997-98** - IUT de Génie Chimique, Nancy / Stage de 2ème année, Option Bio-Procédés *Dégradation enzymatique de polysaccharides de l'amidon et études structurales.* 100%

- Sébastien Daire : **1997-98** - IUT de Génie Chimique, Nancy / Stage de 2ème année, Option Procédés. *Isolement de polysaccharides d'origine agricoles à des fins non-alimentaires.* 100%

- Bertrand Mey : **1998-99** - IUT de Génie Chimique, Nancy / Stage de 2ème année Option Bio-Procédés. *Mise au point de la séparation de macromolécules polysaccharidiques par chromatographie d'exclusion stérique basse pression*. 100%

- Frédéric Blaise : **1998-99** - IUT de Génie Chimique, Nancy / Stage de 2ème année Option Bio-Procédés. *Extraction d'un phytoglycogène de Maïs et analyse par dégradation enzymatique spécifique.* 100%

- Gérard Sabrina : **1999-00** - IUT de Génie Chimique, Nancy / Stage de 2ème année Option Bio-Procédés. *Etude de polysaccharides par chromatgraphie d'exclusion stérique, dégradation enzymatique et mesures viscographiques* 100%

- Aude Louis : **1999-00** - IUT de Génie Chimique, Nancy / Stage de 2ème année Option Bio-Procédés. *Etude d'un biopolymère : dégradation de films d'amidon photoréticulés* 50%

Tous ces étudiants ont obtenu leur diplôme.

V- Activités d'intérêt collectif

♦ **Société Française de Chimie, SFC Section Régionale Champagne-Ardenne :**

Secrétaire de la section régionale : Premier mandat **1992-1996** et deuxième mandat depuis mars **1999-2001** (plus de 60 conférenciers invités, et cinq journées annuelles de communications orales organisées).

J'ai également été à l'origine de la création du " club jeunes sociétaires SFC de la section Champagne-Ardenne " qui rassemble depuis 1992 une cinquantaine de jeunes étudiants chimistes et physiciens de l'université autour d'activités de visites de sites industriels, de conférences, de réunions d'information sur l'emploi, participation aux déplacements aux congrès SFC et à la coordination nationale etc...

Vice-président de la section régionale SFC depuis février **2001.**

♦ **Conseiller scientifique et coordinateur auprès du maître d'oeuvre et des architectes.**

Aide à la conception et la réalisation des aménagements des laboratoires et des salles spéciales du nouvel institut de recherche financé par le conseil général de la Marne : le *Centre de Recherche en Physico-chimie et Biotechnologie de l'Europol'Agro* " CPCBAI Europol'Agro ", destiné à accueillir des équipes dont les recherches portent sur l'étude, la valorisation et l'utilisation de substrats d'origine agricole dans les domaines non-alimentaires (dans lesquels les unités associées sont installées depuis octobre 1996), **1992-1996**.

♦ **Expert Scientifique d'une étude scientométrique et veille technologique.**

Etude de l'utilisation industrielle des Biopolymères dans les domaines non-alimentaires (base de brevets internationaux) pour l'INRA, direction de la sélection des ressources

végétales, Paris et SERD Grenoble en relation avec une équipe de recherche de la Faculté des Sciences Economiques et de Gestion de l'URCA,Reims, **1998-1999.**

- **Membre extérieur de la commission de spécialiste de la 40ème section URCA 1996-1998.**

- **Conseiller sécurité .**

  Conseiller sécurité au sein du laboratoire, formation à la sécurité des étudiants entrants, édition d'un fascicule interne sur les règles de sécurité en laboratoire ; intervenant comme conférencier invité aux journées de l'UNATEB sur la formation à la sécurité, juin **1993.**

- **Organisation de séminaires et de manifestations scientifiques.**
  - **Co-organisateur** du 20ème anniversaire de la section Champagne-Ardenne de la Société Française de Chimie, 23 janvier **1992** (quatre conférences plénières, 41 communications par affiche).
  - **Organisateur** du 30 ème anniversaire de la section Champagne-Ardenne de la Société Française de Chimie, 25 janvier **2001** (deux conférences plénières, 12 communications orales flash et 32 communications par affiche).
  - **Organisateur** des conférences bimensuelles inter-équipes au sein d'Europol'Agro - SIEA **1997-2001**.
  - **Animation** aux journées portes ouvertes " *La Science en Fête* " **1997.**

- **Membre de jury**

  * **Maîtrise et DEA de Chimie,** URCA **1994-1996**.

  * **Maîtrise et DEA d'Economie**, Faculté des Sciences Economiques et de Gestion, URCA **1998-1999.**

  * **Thèses**
    - Thèse de Pharmacie de l'Université de Reims, URCA
      Examinateur de **F. Laurent :** *Macroalgues utilisées en France dans l'alimentation humaine*
      Soutenue le 18 juin **1993**.

    - Thèse nouveau régime de l'Université de Reims, URCA
      Examinateur de **A. Copinet** : *Etude de la dégradation enzymatique d'amidon Acétylé*
      Soutenue le 08 février **1996**.

    - Thèse nouveau régime de l'université de Reims, URCA
      Examinateur de **A. Deradji** : *Estimation de la biodégradation aérobie de mélanges à base d'Amidon natifs et acétylés*.

Soutenue le 20 février **1996**.

- Thèse nouveau régime de l'université de Reims, URCA
  Examinateur, de **S. Nazabadioko** : *Synthèse d'oligosaccharides pour l'hémi-synthèse de saponines*
  Soutenue le 18 janvier **1996**.

- Thèse nouveau régime de l'université de Reims, URCA
Examinateur, de **B.Laignel :** *Synthèse, structure et propriétés d'amidons modifiés*
Soutenue le 14 mars **1997**.

- Thèse nouveau régime de l'université de Lille, USTL
Examinateur, de **A. Rahaoui** : *Ecophysiologie de Rhodella Violacea (Rhodophyta) Production et propriétés structurales des exopolysaccharides et de l'amidon floridéen*
Soutenue le 6 février **1999**.

- Thèse nouveau régime de l'université de Paris XIII
  Examinateur, de **R.V.Huynh** : *Nouvelle approche dans la préparation des dextranes fonctionalisés, relations structure-activité anti-coagulante* s
  Soutenue le 05 oct. **1999.**

VI- Activités de recherche

VI-1 Thématiques de recherche

Mes activités de recherche se déroulent au sein du laboratoire de Pharmacognosie (CPCB Europol'Agro, URCA) de l'Université de Reims Champagne-Ardenne. Ce laboratoire fait partie d'un ensemble de quatre laboratoires qui composent l'unité mixte de recherche UMR 6013 CNRS-URCA (dir. J.-M. Nuzillard). Depuis sa création, ce laboratoire se consacre à l'étude, l'isolement, la détermination de structures et l'activité biologique de nouveaux métabolites extraits de plantes, principalement l'étude des composés de la famille des alcaloïdes à destination thérapeutique. Depuis plusieurs années, le laboratoire a renouvelé ses thèmes de recherche initiaux en s'ouvrant vers de nouvelles directions telles l'étude des

glycoconjugués de la famille des saponines, l'intelligence artificielle (détermination automatique de structures de molécules organiques), les nouvelles méthodologies en RMN, les nouvelles techniques de fractionnement chromatographique (chromatographie à contre-courant), l'hémisynthèse de composés naturels, les modifications chimiques et l'analyse des polysaccharides, et les nouveaux matériaux et dérivés issus de ressources renouvelables.

♦ ***Chimie des Hydrates de Carbone***

Mes activités de recherche portent sur ces derniers points et concernent la chimie des hydrates de carbone : nouvelles méthodes de synthèse d'oligosaccharides et de glycoconjugués, modifications chimiques et étude structurale de polysaccharides.

♦ ***Synthèses multi-étapes d'oligosaccharides et de glycosides***

Ce travail nécessite à la fois la mise en oeuvre de modifications chimiques et de synthèse totale dans le domaine de la chimie des sucres : synthèse multi-étapes d'oligosaccharides holo- et hétérosides- par protection-déprotection, couplages glycosidiques spécifiques et hémi-synthèses de glycoconjugués (hémi-synthèses de saponines, de glycolipides). Ce travail a nécessité la mise au point de nouvelles réactions et de nouvelles techniques de modifications chimiques.

♦ ***Synthèse et analyse structurale de polysaccharides :***

Mon implication récente dans le domaine des polymères s'est faite par le biais de l'étude des modifications chimiques des polysaccharides et leurs propriétés. Elle m'a conduit à diriger une partie de mes activités vers de nouveaux domaines comme l'étude de nouveaux modèles permettant de mieux décrire les structures encore mal connues de polymères naturels tels que l'amylopectine de l'amidon. Ces études ont pour but de pouvoir mieux prévoir les propriétés physico-chimiques macroscopiques des produits modifiés en comprenant mieux leur structure chimique de base.

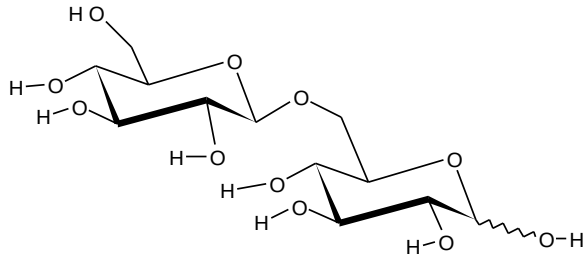
VI-1-1- Synthèse d'oligosaccharides.

La complexité en synthèse de structures oligosaccharidiques spécifiques réside dans le nombre phénoménal de combinaisons auxquelles on peut rapidement accéder à partir de quelques monosaccharides seulement. La comparaison habituelle, dans le domaine de la biochimie, avec les oligomères d'acides aminés permet de mieux appréhender cette complexité. Toutes deux étudiées par E. Fisher à la fin du 19ème siècle, les synthèses peptidique et oligosaccharidique, ont connu des différences notoires dans leurs

développements respectifs. En effet, la synthèse de tous les petits dipeptides a été réalisée au début du siècle dernier et celle d'oligopeptides de plus grande taille, déjà robotisée depuis plusieurs décennies, est à l'origine des nombreuses études actuelles en synthèse combinatoire. Par contre, l'élaboration contrôlée d'oligosaccharides de très petite taille reste toujours délicate, sa mise en oeuvre manuelle nécessite encore de nombreuses compétences et beaucoup de savoir-faire de la part de leurs auteurs. Malgré les nombreux efforts réalisés dans ce domaine par l'ensemble des équipes spécialisées dans le monde, la synthèse de l'ensemble des disaccharides de glucose n'a pas encore pu être réalisée !

Afin de mieux comprendre les difficultés comparatives rencontrées dans ces deux domaines, il est intéressant de se pencher un instant sur la différence de niveaux de complexité respective en combinant entre eux la vingtaine d'acides aminés naturels ou la trentaine de sucres les plus courants dans la nature. Par exemple on ne peut obtenir qu'un seul dipeptide à partir d'un acide aminé. Par contre le nombre de structures homodisaccharidiques possibles (obtenues en combinant les seules configurations connues : furano, pyrano heptano et ouvertes) avec deux D aldohexoses identiques, comme le glucose, est de cent quatre-vingt-quinze (195, dont seule une cinquantaine doit être actuellement connue). Si l'on dispose de deux monomères différents, le nombre de dipeptides possibles à partir de deux acides aminés différents est de quatre (deux homo et deux hétéro) alors que celui des disaccharides est, dans les mêmes conditions, de sept cent soixante-quatorze (774).

Cette différence de niveau de complexité va s'accentuer de plus en plus avec les oligomères de taille croissante ; en effet l'allongement par ajout d'un nouvel acide aminé ne pourra se faire que de manière linéaire avec la seule polarité (N ou C terminal). Ainsi la croissance des peptides se fera toujours de manière régulière unidimensionnelle alors que dans les combinaisons oligosaccharidiques, les positions OH n'ayant pas encore été substituées peuvent toutes donner lieu à de nouveaux points de branchement, conduisant à des ramifications dans toutes les directions possibles. Le contrôle absolu de la configuration, de l'anomérie du sucre donneur, de la régio- et de la stéréo-spécificité au niveau des sites de couplage sur le sucre cible sont autant de raisons qui peuvent expliquer pourquoi la construction de structures oligosaccharidiques reste un domaine difficile dans lequel la synthèse étape par étape, ou bloc part bloc, constitue toujours un travail fastidieux qui nécessite encore souvent une mise au point au cas par cas, beaucoup de précautions et une grande connaissance du domaine.



1 Gentiobiose

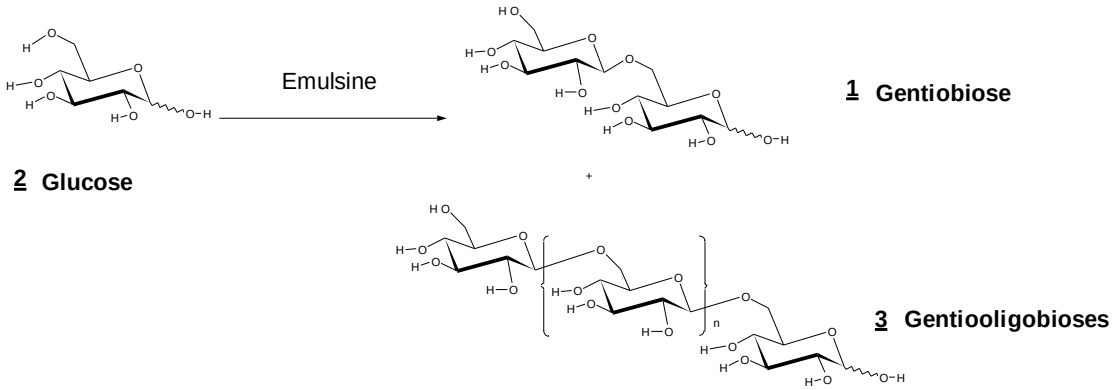
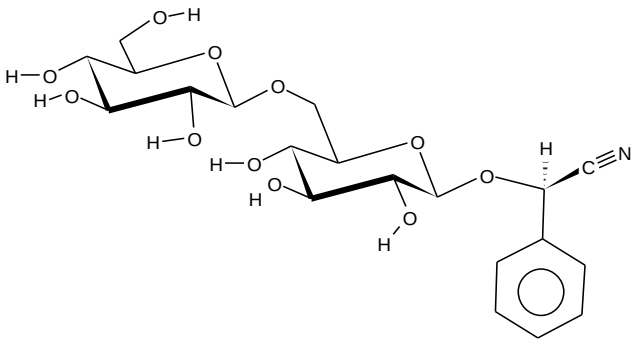


Fig. 1



4 Amygdaline

Fig. 2

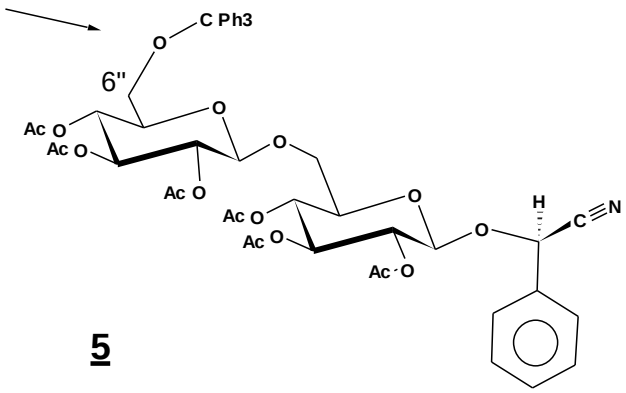


Fig.3

VI-1-1-1 Synthèse d'oligosaccharides de sous-structure gentiobiose à partir de l'Amygdaline.

Le gentiobiose 1 est le disaccharide formé à partir de deux molécules de glucose dont le deuxième résidu glucopyranose "non réducteur" est lié par une liaison glycosidique de type bêta sur la position 6 du sucre "réducteur". C'est une sous-structure fréquemment rencontrée dans les oligosaccharides naturels et les saponines. Le gentiobiose est un produit commercial ; cependant il reste cher pour être utilisé comme source de sucre de départ dans une synthèse multi-étapes. Il doit aussi être protégé et activé avant utilisation, ce qui augmente son coût d'utilisation. Nous l'avons fabriqué à partir du glucose 2 par voie enzymatique (fig.1) en utilisant une solution de D-glucose et une béta-glucosidase commerciale, l'émulsine d'amande douce. Cette synthèse reste longue et malgré le très faible coût du glucose de départ, le faible rendement, la lenteur de la réaction et la grande difficulté à séparer et purifier le gentiobiose de ses analogues supérieurs 3 limitent l'utilisation de cette réaction. Il existe par ailleurs un produit naturel et commercial, l'Amygdaline (fig.2), dérivé gentiobioside du mandélonitrile très répandu dans le domaine végétal. C'est un sous produit de l'agriculture (industrie des fruits) qui n'avait pas, à notre connaissance, rencontré d'applications en tant que matière première. Produit dans le noyau des fruits des rosacées, ce composé est mis en contact avec une bêta-glucosidase lorsque les cellules du noyau sont endommagées libérant ainsi un ion cyanure avec les glucoses et du benzaldéhyde. Ce produit nettement moins cher que le gentiobiose présente l'avantage de posséder déjà les deux sous structures glucopyranoses figées par blocage de la fonction hémi-acétalique réductrice sous la forme d'un bêta-glycosyle du groupement mandelonitrile. Il nous a semblé intéressant de développer une nouvelle chimie à partir de ses dérivés de façon à pouvoir les utiliser comme " bloc disaccharide gentiobiosyl- " dans des synthèses d'oligosaccharides. La protection spécifique de la position 6" par le groupe triphényl-méthyle suivie d'une acétylation des autres fonctions hydroxyles conduit à un dérivé 5 (fig. 3) sur lequel nous avons découvert qu'il était possible de réaliser directement une glycosylation sur la position 6" **sans avoir besoin de régénérer au préalable la fonction hydroxyle.** Dans les conditions de réaction, l'intermédiaire de glycosylation oxonium vient remplacer le groupement triphénylméthyle, et l'ion triphénylcarbénium formé va aller piéger l'ion cyanure du catalyseur sous forme de triphénylacétonitrile (rendement >75%).

$$R\text{-}O^{+}{=}R \quad + \quad R'\text{-}O\text{-}CPh_3 \quad \text{--->} \quad R\text{-}O\text{-}R' \; + \quad CPh_3^{+}$$

$$CPh_3^{+} \; + \quad CN^{-} \quad \text{--->} \quad CPh_3CN$$

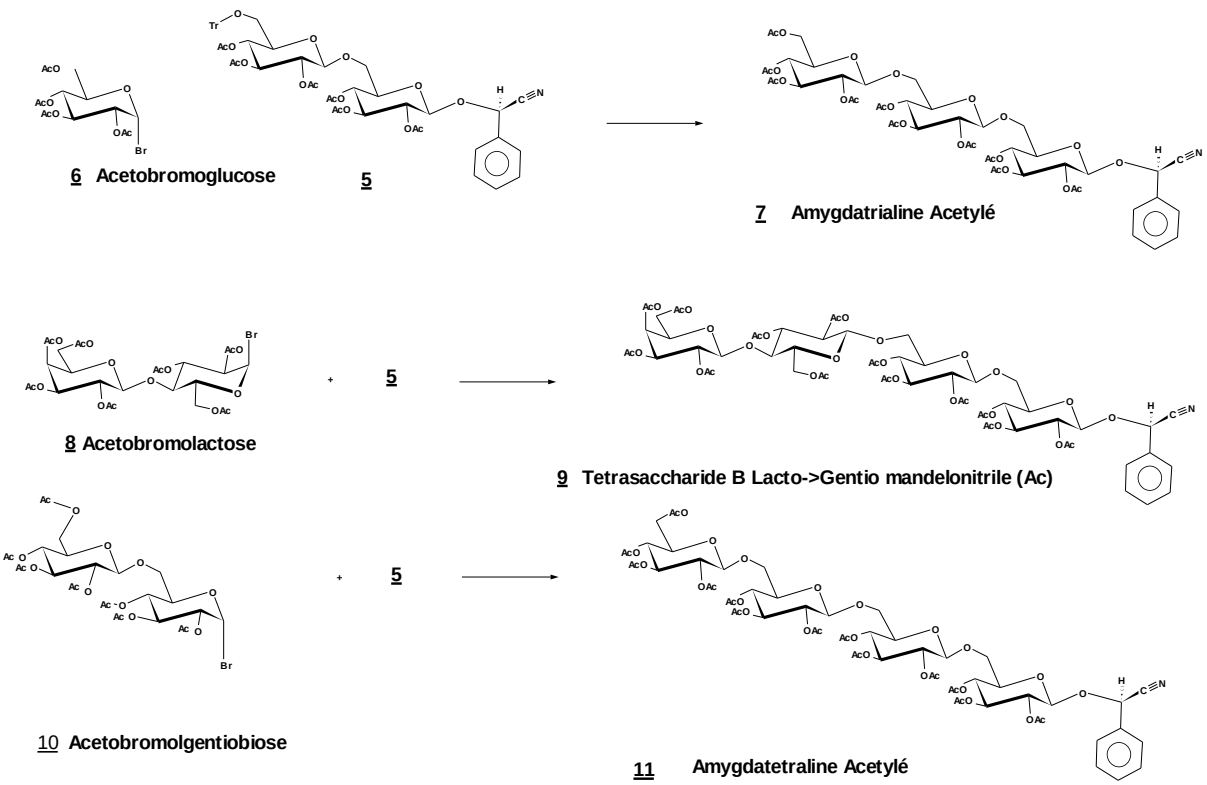

6 Acetobromoglucose
5
7 Amygdatrialine Acetylé
8 Acetobromolactose
5
9 Tetrasaccharide B Lacto->Gentio mandelonitrile (Ac)
10 Acetobromolgentiobiose
5
11 Amygdatetraline Acetylé

Fig. 4

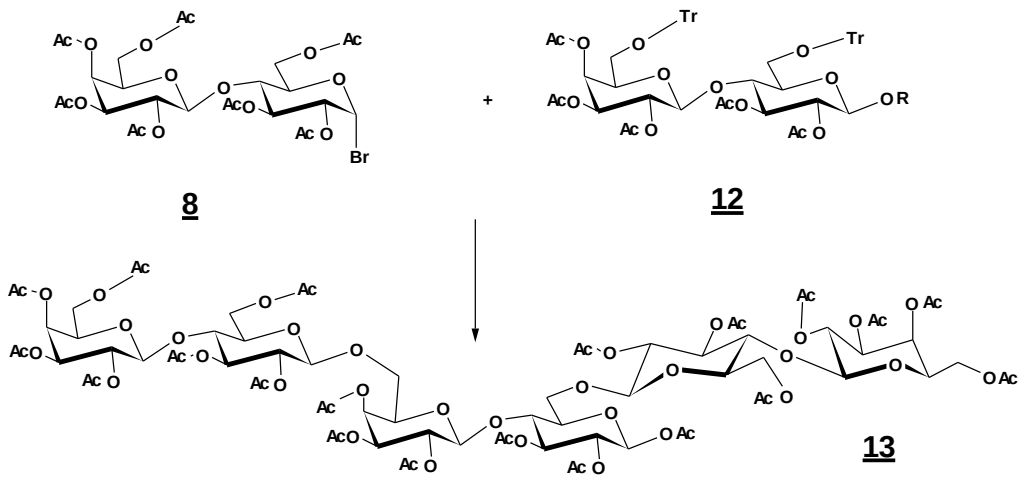

8
12
13

Fig. 5

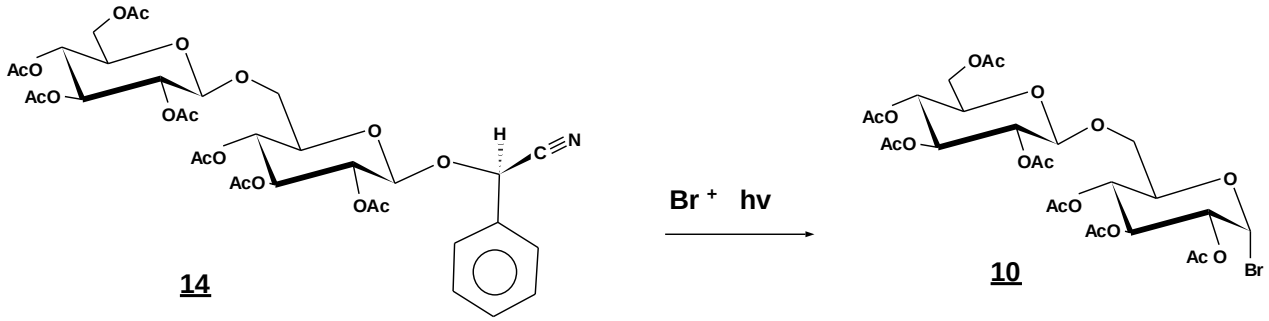


Fig. 6

Cette réaction nous a permis de réaliser aisément la synthèse d'un grand nombre de tri- et tétra-saccharides en faisant réagir de manière spécifique un mono- ou disaccharide sous sa forme activée " bromure de glycosyle acétylé " aisément accessible (fig. 4) sur la position 6" de ce dérivé de l'Amygdaline.

VI-1-1-2 Synthèse d'oligosaccharides ramifiés

Nous avons également découvert que cette méthode peut être avantageusement utilisée pour réaliser des glycosylations multiples simultanées. En effet, nous avons montré qu'il est possible de réaliser cette réaction de glycosylation de dérivés 6- tritylés à d'autres disaccharides possédant cette fois deux fonctions hydroxyles primaires disponibles (fig. 5). Ces doubles glycosylations nous ont ainsi permis de réaliser rapidement la synthèse d'**oligosaccharides ramifiés** .

Ce type de réactions s'ajoute au faible nombre de réactions de couplages glycosidiques impliquant des **alcools protégés** et une quantité catalytique d'activateur.

VI-1-1-3 Synthèse directe de bromure de glycosyle à partir de glycoside de mandelonitrile.

Rendant encore plus avantageux l'utilisation de l'Amygdaline, nous avons également découvert que ce groupement anomère *mandélonitrile* de l'Amygdaline pouvait être enlevé et remplacé par un atome de brome directement dans une réaction avec un ion bromonium (fig. 6) sous activation photochimique, pour conduire directement au dérivé - bromure de gentiobiosyle acétylé 10. Ce dérivé activé est directement utilisable dans une réaction ultérieure de couplage sur le dérivé 5 de l'Amygdaline pour conduire à l'analogue tétrasaccharidique -gentiobiotétraosyl- de l'Amygdaline (fig. 3)(*Tetrahedron Letters*, **1993**, 34, 5083-5084.).

Cette réaction est d'autant plus intéressante qu'elle permet de transformer directement non seulement l'Amygdaline acétylée, mais **également les dérivés oligosaccharidiques** - *oligdalines* - obtenus par couplage sur le dérivé 5 de l'Amygdaline et portant toujours le groupement mandelonitrile en position anomère, en dérivé activé bromure d'oligosaccharide acétylé correspondant (fig. 7). Ces dérivés oligosaccharidiques bromés sont directement utilisables comme donneurs de glycosyles intermédiaires activés prêts pour le couplage glycosidique avec un accepteur de glycosyles tel un aglycone génine ou un autre sucre cible. (Thèse S. Nazabadioko)

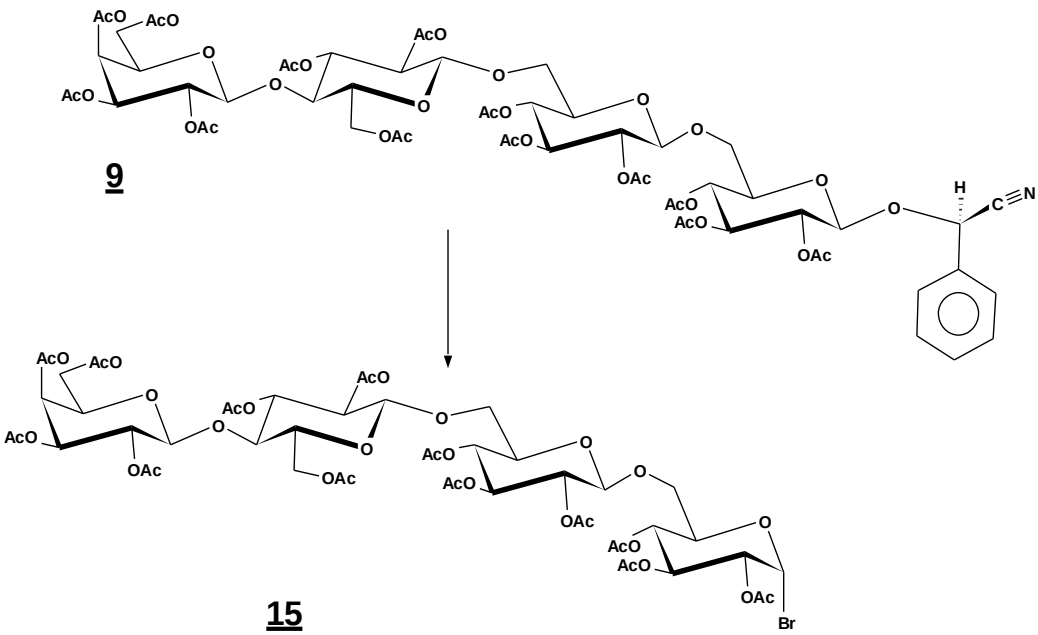


Fig. 7

VI-1-2 Synthèse de glycoconjugués

VI-1-2- 1 Hémisynthèse de saponines.

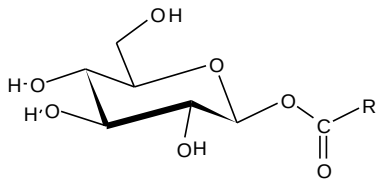
Les saponines constituent une famille de métabolites secondaires des végétaux et des animaux, possédant un ensemble de propriétés **palatatives** et biologiques (**hémolyse**). Elles sont responsables des propriétés **d'amertume** et de goût dans un grand nombre de végétaux consommés dans l'alimentation humaine (haricot, épinard, pois ...) ou animale (luzerne, soja...) ainsi que dans de très nombreux condiments. De nombreuses plantes riches en saponines sont utilisées pour leurs propriétés pharmacologiques. A titre d'exemple, parmi les produits commerciaux vendus à grande échelle, citons le Cyclo-3*® dont les principes actifs extraits du petit houx *Ruscus aculeatus* contiennent des mélanges de saponines dont la composition et les structures ne sont pas clairement définies ou seulement partiellement connues. Ces propriétés n'ont pu être que très partiellement étudiées faute de pouvoir obtenir des produits de pureté et quantité suffisantes. Tout comme de nombreux autres glycolipides, elles peuvent également présenter des propriétés **tensio-actives**, qui sont par ailleurs à l'origine de leur nom générique.

La structure chimique des saponines se compose essentiellement de trois parties : une partie génine terpénique ou stéroïdique, une partie oligosaccharide (de un à dix sucres environ), parfois substituée par des acides organiques ou acides gras. Le nombre de génines présentes dans une plante produisant des saponines se limite souvent à quelques unes, souvent affiliées par leur biosynthèse. En revanche, c'est l'immense diversité des structures possibles au niveau des enchaînements d'oligosaccharides qui conduit à des mélanges rapidement

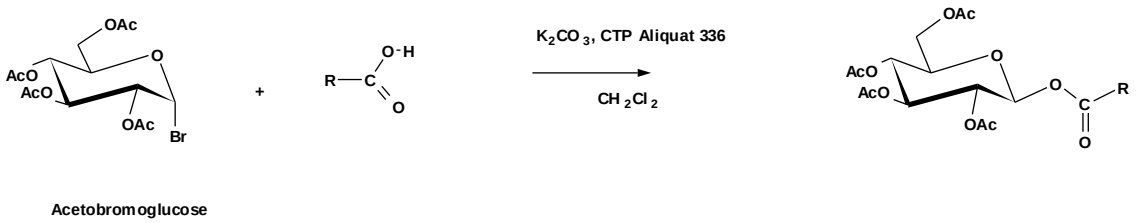
inextricables. Ces composés de structures très voisines possèdent des propriétés physico-chimiques extrêmement semblables ce qui rend la purification souvent fastidieuse, malaisée et parfois incertaine.

IV-1-2-2 Relations structure /activité biologique

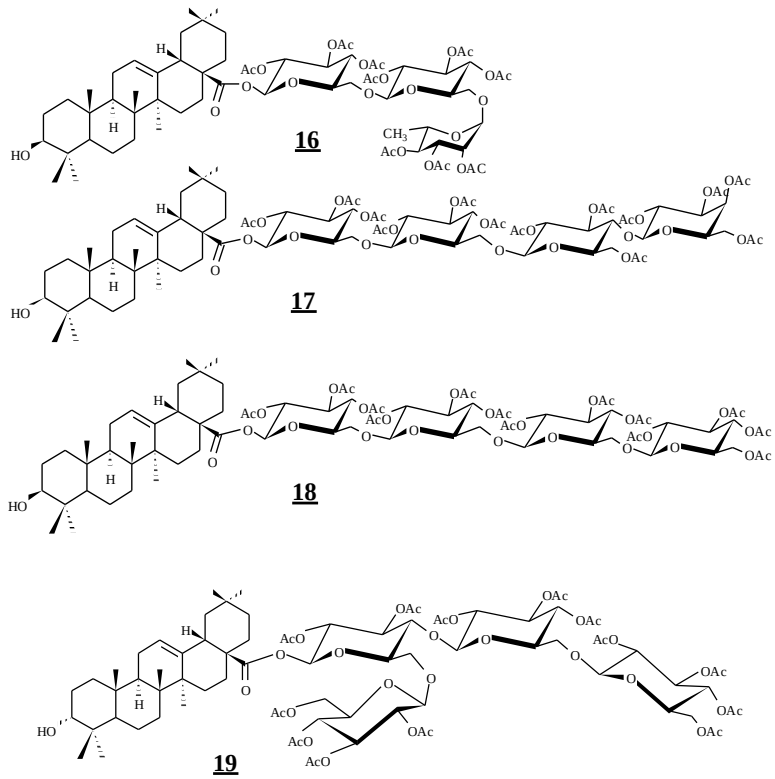
Afin d'étudier les relations structure/activité biologique, il est indispensable de disposer de quantités pondérables de saponines pures de structures parfaitement déterminées. Etant donné que différentes techniques d'extraction et de purification ne permettent jamais de s'affranchir totalement d'une possibilité de contamination par un composé de structure très proche, nous avons développé un programme d'hémisynthèse de saponines. Les génines pures sont soit commerciales, soit obtenues à partir de la purification par chromatographie d'hydrolysats d'extraits bruts de saponines. Les saponines sont ensuite fabriquées par recombinaison de ces génines avec des chaînes de sucres de structure parfaitement définie qui ont été construites par synthèse glycosidique. Il existe de nombreuses méthodes particulières développées pour la synthèse glycosidique classique de type acétalique. Dans les saponines naturelles, un autre type de liaison glycosidique est également fréquemment trouvé :



Liaison glycosylester
Fig. 8



Réaction de couplage d'un glycosylester
Fig. 9



Exemples de saponine monodesmosidiques glycosylester synthétisées.
Fig. 10

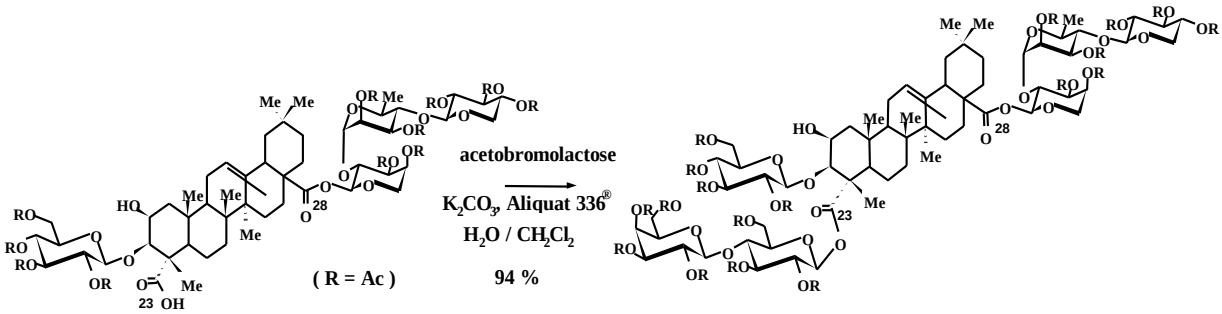


Fig. 11

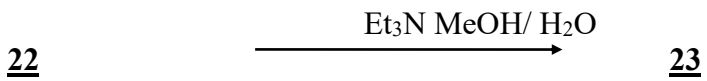
il s'agit de la liaison glycosyl-ester où la chaîne de sucres est branchée à la génine sur une fonction acide par le biais d'une fonction de type ester d'acétal ou glycosyl-ester (fig. 8). Il n'existait jusqu'alors que deux réactions citées dans la littérature pouvant conduire à ce type de liaison. Celles-ci étant inapplicables dans notre cas ou conduisant à des rendements beaucoup trop faibles, nous avons développé **une nouvelle méthode** permettant de conduire très simplement et avec **d'excellents rendements et une parfaite stéréo-spécificité du couplage** à ce type de composés. Cette réaction permet de réaliser le couplage d'un résidu mono- ou oligosaccharide sous la forme acéto-bromosucre classique avec la fonction carboxylique d'un acide organique sous la forme libre. Elle s'effectue dans un système biphasique eau / dichlorométhane dans des conditions de transfert de phase, en présence de carbonate de potassium et conduit avec un très bon rendement au produit de couplage béta-

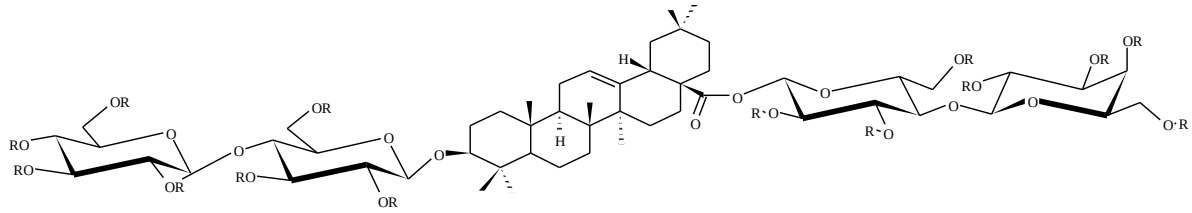
glycosylester (fig. 9). Cette méthode de synthèse nous a permis de réaliser toute une gamme de molécules de structures différentes (fig. 10) (Thèse S. Nazabadioko).

Nous avons pu montrer la généralité de cette réaction pour des saponines portant déjà plusieurs chaînes de sucres protégés (fig. 11) mais également les acides carboxyliques de diverses natures : lipidiques à chaîne saturée et insaturée, aromatiques diversement substitués et encombrés, comme les acides terpéniques ainsi que d'autres acides carboxyliques comportant une partie lipophile. Les rendements obtenus sont bons (acide cinnamique, 93% ; acide 2,4,6-trimethoxy cinnamique, 94 % ; acide bêta-naphtoïque, 96% ; acide O-acétyl salicylique, 80%, oléique, 96% ; undécanedioïque, 72%) (*Tetrahedron Letters*, 35, **1994**, 6107-6108).

Une fois la réaction de couplage effectuée, il est important de pouvoir déprotéger sélectivement les groupements protecteurs acétates sur la partie sucre sans pour autant saponifier la liaison glycosylester dont la nature chimique est extrêmement semblable à la fonction ester acétyl- des sucres. Les méthodes classiques de clivage des liaisons acétates (bases alcalines aqueuses, méthanolates / méthanol) conduisent également à la perte de la liaison glycosylester. Par contre, nous avons montré qu'il était possible de libérer spécifiquement les fonctions hydroxyles de la partie sucre **par hydrolyse sélective de la fonction ester des acétates sans toucher à la fonction glycosylester** (fig. 12) en utilisant le mélange méthanol/triéthylamine/eau dans les conditions de Lubineau et al. (*Tetrahedron Lett.* 26 , **1985**, 2653)

Cette réaction nous a permis d'effectuer la synthèse d'une cinquantaine de saponines de structure mono- di- et même tridesmosidiques comportant des chaînes oligosaccharidiques linéaires et ramifiées accrochées à la fois par des liaisons glycosidiques acétaliques classiques mais aussi par des liaisons glycosylesters (fig. 11, 12).





22 R = Ac
23 R = H

Fig 12

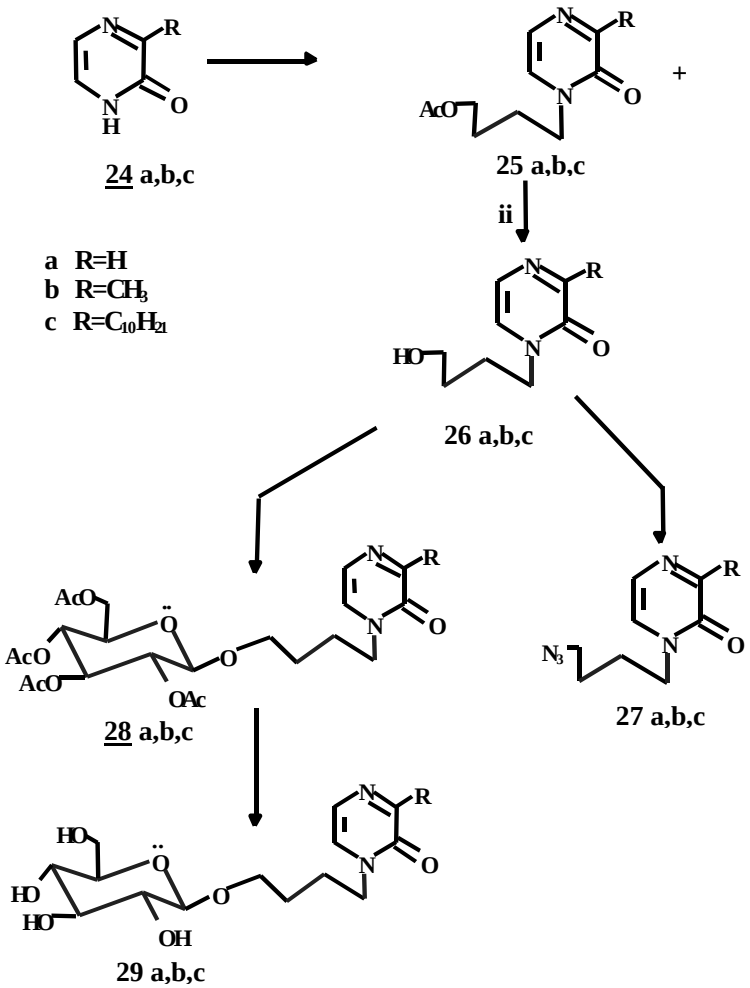


Fig. 13

VI-1-2- 3 Synthèse de dérivés glucosylés d'analogues de l'Acyclovir ¨.

Le développement de réactions de couplage de sucres avec divers substrats nous a conduit à nous intéresser à leur application dans le domaine de la solubilisation et du transport et de la vectorisation de principes actifs. Dans le cadre d'un programme

d'élaboration de composés antiviraux de type pyraziniques, en collaboration avec le laboratoire de chimie des substances naturelles de la Faculté des Sciences de Limoges, nous avons réalisé la synthèse de nouveaux types d'analogues glucosylés d'acylnucléosides possédant des bases pyraziniques simples ou substituées par des chaînes aliphatiques de longueurs variées.

La recherche dans le domaine de la synthèse d'analogues nucléosidiques antiviraux dirigés contre les virus Herpex Simplex et HIV a été stimulée par la découverte de la 9 (hydroxyéthoxy méthyl) guanine (Acyclovir)® comme agent anti-herpès puissant et sélectif. Dans la synthèse de ces analogues, le pentose du nucléoside a été remplacé par une chaîne acyclique à quatre carbones. La perte des fonctions hydroxyles du pentose, son remplacement par une chaîne hydrophobe ajoutée à la présence des chaînes aliphatiques sur la base pyrazinique provoque une trop forte baisse de la solubilité en milieu aqueux. Afin de restaurer l'activité biologique avec la solubilité du composé, il a été décidé de coupler un résidu glucose à l'extrémité hydroxypropyle de ces analogues. Ceux-ci ont été obtenus par couplage sélectif d'une chaîne aliphatique halogénée avec la base pyrazinique suivi de la glycosylation avec l'acétobromoglucose (fig. 13).

Comme l'ont montrés D. Withfield et coll. (*Can. J. Chem.* 72, 1994, 2225.), par des phénomènes de reconnaissance spécifique, la fixation d'une entité glucidique sur un nucléoside peut accroître son activité antivirale.

La synthèse de ces glycosides a été effectuée par réaction de Koenigs-Knorr sur les bases portant le bras hydroxybutyl- à la place du pentose du nucléoside, sur la base simple, méthylée ou portant la chaîne décannyle. La déprotection des groupements acétyles a permis d'obtenir les analogues glycosylés correspondants.

L'évaluation des propriétés biologiques d'inhibition effectuée sur la réplication de différents virus à ADN (Herpex Simplex type I, Human Cytogallovirus, vaccinia virus) et à ARN (Coxackie virus et HIV-1) n'a pas permis de mettre en évidence une amélioration suffisamment importante de l'activité par rapport à l'Acyclovir permettant de justifier la poursuite des modifications structurales allant dans ce sens (Thèse J. Davis).

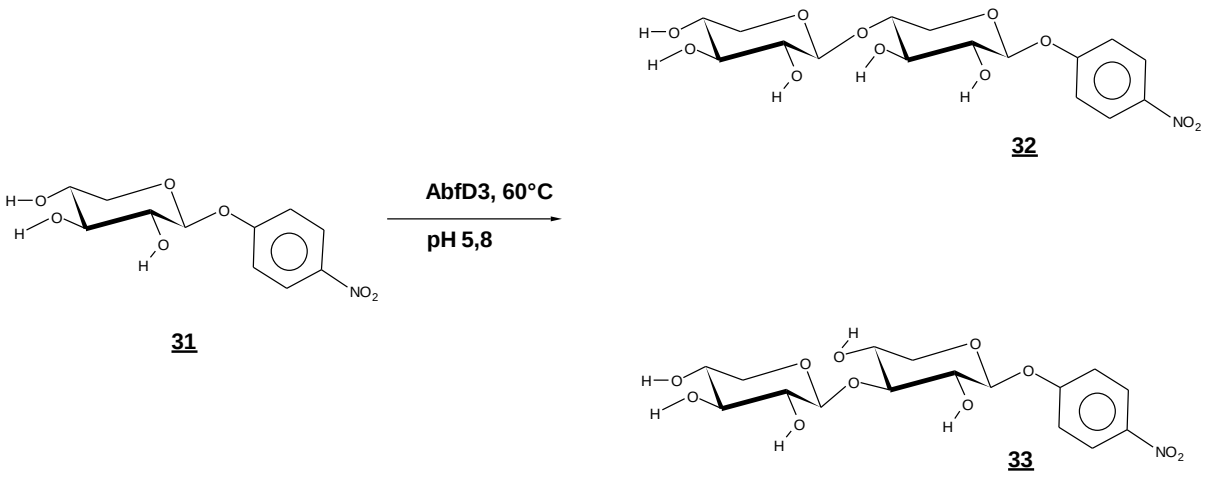


Fig. 14

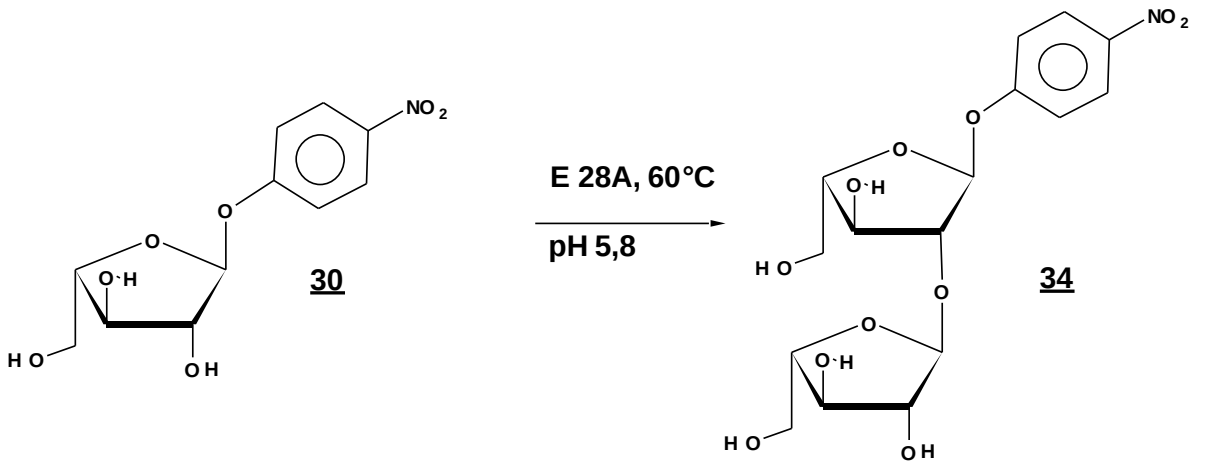


Fig. 15

VI-1-2-4 Synthèse enzymatique d'arabino- et de xylo-oligosaccharides

Tout comme pour la synthèse du gentiobiose (fig. 1, p.10) l'utilisation d'enzymes en synthèse totale d'oligosaccharides et de glycosides peut permettre, lorsque celles-ci sont disponibles, de réduire notablement le nombre, parfois considérable, d'étapes nécessaires pour construire sélectivement, par synthèse chimique, un motif oligosaccharidique protégé ou activé sélectivement en position anomère. Les enzymes utilisées doivent pouvoir à la fois accepter d'utiliser des substrats souvent non naturels tout en restant spécifiques quant à la régio- et la stéréosélectivité du couplage glycosidique.

Lorsqu'une enzyme possédant une activité nouvelle spécifique -hydrolytique ou de couplage- a été identifiée dans un organisme, la mutagenèse dirigée peut permettre, en faisant varier la nature des acides aminés du site actif ou de zones clés pour la structure tridimensionnelle, de moduler certains des paramètres de la réaction. De cette façon il est possible de mieux adapter l'enzyme à la réaction choisie, en modifiant la spécificité du substrat ou bien même les produits de la réaction.

Dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe d'enzymologie de l'UMR FARE 614 de l'INRA nous nous sommes impliqués dans l'utilisation de la synthèse enzymatique par l'étude des réactivités et les déterminations de structures de dérivés de pentoses et oligopentoses.

L'α-L-arabinofuranosidase D3 (AbfD3), enzyme thermostable isolée chez *Thermobacillus xylanilyticus* dont la fonction principale consiste à hydrolyser les résidus arabinosyles branchés sur les chaînes polyxylanes de l'hémicellulose, présente une activité hydrolytique sur deux substrats synthétiques : l'α-L-arabinofuranoside de para-nitrophényle 30 et le β-D-xylopyranoside de paranitrophényle 31.

Cette enzyme possède également une activité de **transglycosylation** sur ces substrats glycosides d'aryle pouvant facilement être mise à profit en synthèse glycosidique. L'AbfD3 utilise le β-D-xylopyranoside de paranitrophényle 31 pour synthétiser le mélange de deux (O-β-D-xylopyranosyl)-O- β -D-xylopyranoside de paranitrophényle 32 et 33, avec un rendement de l'ordre de 50% (fig. 14).

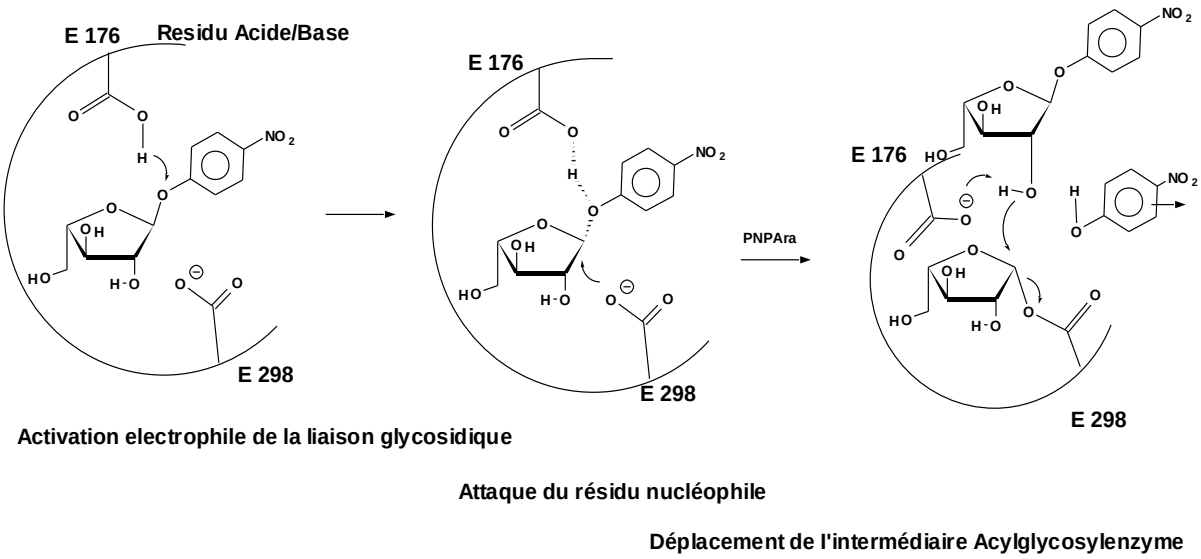
Par contre, lorsque l'α-L-arabinofuranoside de paranitrophényle 30 est utilisé comme substrat de départ, un seul disaccharide est synthétisé : le (O-α-L-arabinofuranosyl)-2-O-α-L-

arabinofuranoside de paranitrophényle 34 (fig. 15), de manière **régio- et stéréospécifique avec rétention de la configuration furanosique.**

Cette réaction est extrêmement intéressante car elle permet, à partir d'un produit commercial d'obtenir directement en **une seule étape** le disaccharide spécifique L-arabinobiose (1->2) activé en position anomère par le groupement para-nitrophényle, et comportant les deux résidus arabinoses en configuration alpha-furanosidique.

L'utilisation de la mutagenèse dirigée a permis de déterminer la fonction essentielle pour l'activité catalytique de trois résidus - acides glutamiques - de l'AbfD3 : E28, E176 et E298. Les deux derniers constituent le couple acide/base du site catalytique (fig. 16).

Bien que n'étant pas dans le site actif, le résidu E28 est également indispensable à l'activité. Son remplacement par une alanine conduit au mutant E28A ayant perdu l'activité hydrolytique mais pour lequel l'activité de transglycosylation est supérieure. Cette mutation permet d'améliorer les rendements de l'activité glycosynthétase de l'enzyme et même d'obtenir des α-L-arabinofurano-oliogosaccharides de paranitrophényle de degrés de polymérisation supérieurs à ceux obtenus par l'action de l'enzyme sauvage (Thèse T. Debèche).



Mécanisme proposé de transglycosylations par l'AbfD3

Fig16

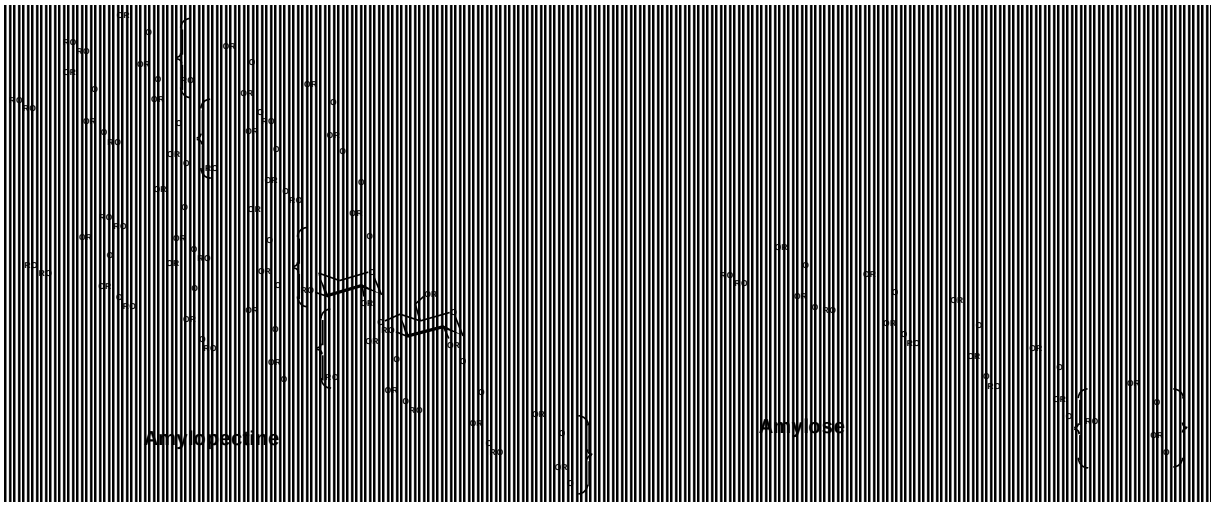
VI -1-3 Etude et modification chimique de polysaccharides.

Depuis plusieurs années, la baisse des prix de production et la nouvelle politique agricole commune ont ouvert le champ d'utilisation des produits agricoles à d'autres domaines que le seul marché de l'alimentaire. Ainsi, le coût de production des polymères végétaux comme les produits et sous-produits céréaliers est devenu compétitif avec celui des polymères traditionnels de la pétrochimie. L'utilisation de ces polymères d'origine naturelle dans le domaine des matériaux est apparu avantageux à de nombreux points de vue. D'une part leur origine naturelle et renouvelable offre des avantages tant du point de vue de leur disponibilité que de celui de leur biodégradabilité naturelle et complète. Par ailleurs, leur incinération ne participe pas formellement à l'augmentation du taux de gaz carbonique dans l'atmosphère, dans le contexte des gaz à effet de serre, leur matière carbonée étant d'origine atmosphérique. D'autre part la poly-fonctionnalité de ces molécules permet d'envisager une grande diversité de modifications chimiques et biochimiques ouvrant de nombreuses possibilités quant aux modulations des caractéristiques physico-chimiques de ces nouveaux matériaux. En outre, les **retombées théoriques** de ces études sont nombreuses car contrairement aux polymères synthétiques classiques, dont les structures sont le résultat de moyennes statistiques, ces nouveaux objets moléculaires possèdent **des macrostructures organisées**. Ces structures, induites par la chiralité des monomères d'une part et l'origine enzymatique d'autre part, conditionnent les propriétés physico-chimiques des matériaux.

VI-1-3-1 Polymères thermoplastiques biodégradables : modification chimique de l'amidon.

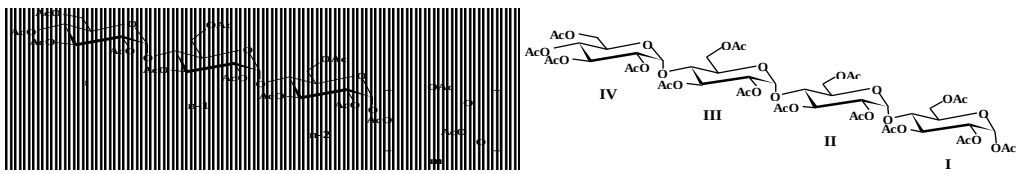
Nous avons abordé l'étude des polysaccharides d'origine naturelle par le complexe Amylose / Amylopectine constituant le grain d'amidon. Par modification chimique, il est possible de moduler les propriétés physico-chimiques de ces polymères naturels afin de leur conférer des caractéristiques nécessaires pour leur utilisation en tant que matériaux plastiques. Le caractère hydrophile intrinsèque des fonctions hydroxyles, rendant ces différents substrats particulièrement sensibles à l'eau d'une part et d'autre part la nature

compacte, faiblement enchevêtrée, des molécules d'amylopectine, constituants majeurs de l'amidon, conduit à des formulations qu'il est relativement facile d'extruder et de mettre en forme, mais dont les caractéristiques mécaniques restent faibles et très fortement dépendantes de l'hygrométrie. Par ailleurs, la recristallisation spontanée de doubles hélices (ou hélice simple après complexation hélicoïde autour d'un substrat linéaire) fait évoluer très rapidement les propriétés mécaniques des objets formés dans le temps. Les marchés pressentis sont ceux de l'emballage et du conditionnement, gros consommateurs de matériaux polymères et gros producteurs de déchets. L'un des programmes de recherche sur lesquels nous travaillons actuellement dans ce domaine est financé par le Département de la Marne dans le cadre d'Europol'Agro dans le but de développer ces nouveaux Biomatériaux.

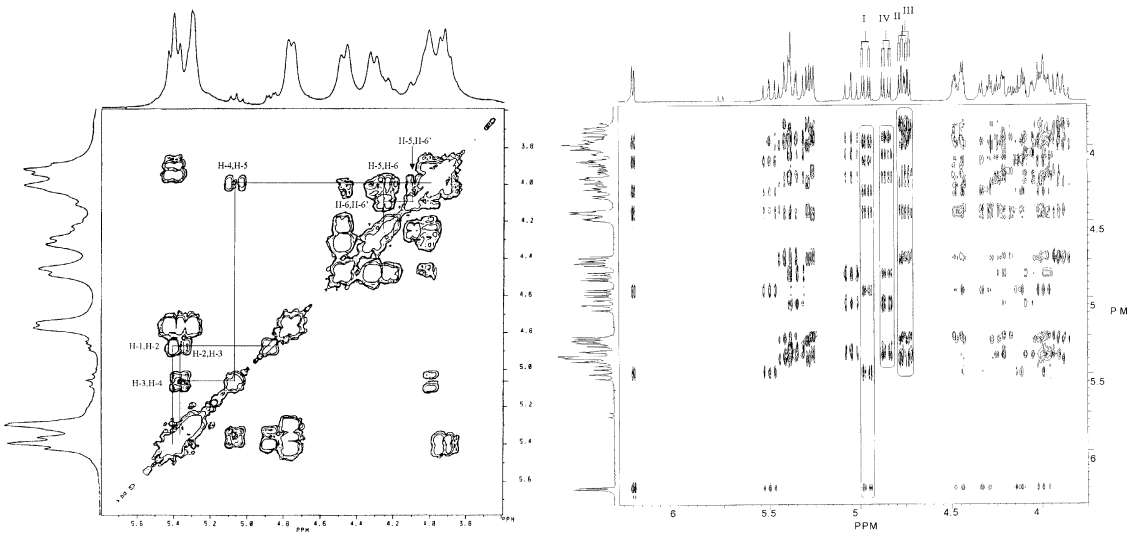


35 **36**

Fig. 17



Identité des structures de fin de chaîne entre l'amylopectine et le maltotétraose.
Fig. 18



Comparaison des spectres de corrélation Homonucléaire proton-proton HOHAHA d'amylopectine et de maltotétraose peracétylés.

Fig. 19

VI-1-3-2 Acétates d'amidon , modification de l'hydrophilie

Nous avons commencé l'étude des modifications chimiques de l'hydrophilie par l'estérification de l'amidon avec le modèle simple des acétates. Ce travail s'est effectué avec le concours d'un partenaire industriel régional (ARD) et de l'Ecole d'Ingénieur d'Emballage et de Conditionnement (ESIEC) pour l'étude de la biodégradabilité. Nous avons étudié les cinétiques d'estérification des trois fonctions hydroxyles en position -2, -3 et -6 du motif moyen anhydroglucose des deux familles principales de macromolécules : **amylopectine 35** et **amylose 36** (fig. 17) (Thèse B. Laignel).

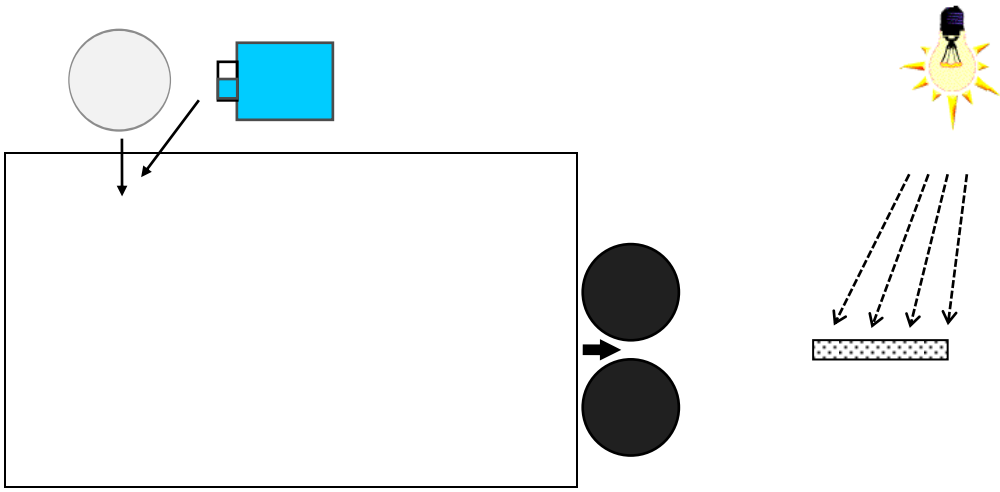
VI -1-3-3 Etude par RMN des Acétates d'amidon

L'étude RMN des produits de la réaction nous a permis de distinguer des détails structuraux très intéressants comme l'identification de plusieurs familles d'unités anhydroglucoses modifiées qui occupent des positions particulières dans la macromolécule amylopectine (fig. 18). Le spectre RMN proton à haut champ des amidons fortement substitués montre très distinctement, en plus des grands pics correspondant aux motifs moyens m, la présence d'un triplet à 4,65 ppm et d'un doublet de doublet à 3,95 ppm et

plusieurs autres petits massifs moins bien résolus. La comparaison avec des oligomaltosides peracétylés nous a permis de montrer que ces pics correspondent aux protons 4 et 2 des motifs glucose terminal t et aux motifs n-1 et n-2 des chaînes ramifiées d'amylopectine (fig. 19). La complexité structurale de l'amylopectine polymère non linéaire nous a conduit à étudier plus avant ces produits à l'aide de la RMN à très haut champ. Nous avons eu accès à un spectromètre à 800 MHz pour étudier un amidon partiellement modifié (DS 2.84). Ces motifs comptent pour moins de 5% de l'ensemble des motifs. Nous avons ensuite déterminé l'ensemble des systèmes de spin de ces motifs à l'aide d'expériences bi-dimensionnelles homonucléaires COSY et HOHAHA. Par ailleurs, l'étude approfondie des substrats partiellement modifiés nous a permis de montrer l'existence d'une influence du processus physico-chimique de modification sur la structure des produits obtenus. Des composés de même DS, obtenus selon deux procédés différents ont montré une **répartition différente** des substituants au sein du polymère. Ce résultat est d'autant plus important si l'intérêt économique du sujet doit résider dans une modification partielle des macromolécules. En effet, bien que l'amidon soit bien rendu hydrophobe par la peracétylation, la faiblesse obtenue des propriétés mécaniques des matériaux n'a pas permis de développer ce produit dans des applications permettant au partenaire industriel de justifier ce coût de transformation.

* (Degré de substitution DS : On appelle degré de substitution ou DS la moyenne du nombre de fonctions hydroxyles substituées chimiquement par motif anhydroglucose monomère. Le DS varie donc de 0 à 3 pour les polysaccharides homogènes de glucose. Le degré de substitution correspond à une analyse moyenne de la modification chimique du polymère et ne rend absolument pas compte de la nature de la répartition des substituants.)

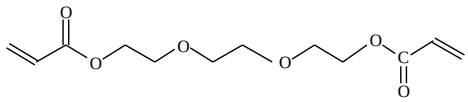
formulation : amidon , plastifiants, photoactivateur.

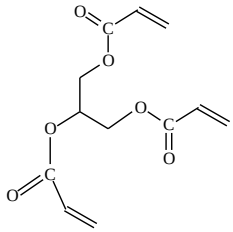


formulation----------->extrusion---->mise en forme du film---->irradiation------->film réticulé

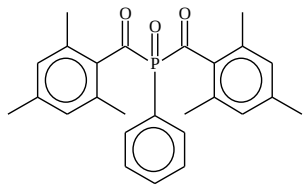
Photoréticulation à l'état solide d'une formulation d'amidon après extrusion et mise en forme.

Fig. 20

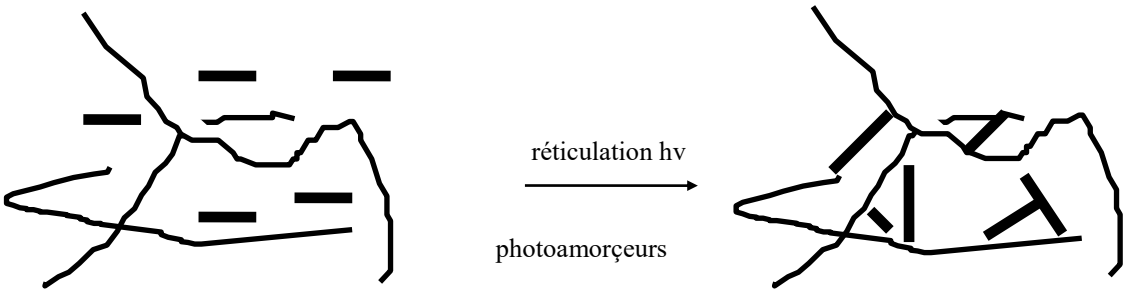




Agents de réticulation di- et tri acrylates : TEGDA et GPTA



Photoamorçeur Irgacure 819



mélange amidon plastifié agent de réticulation

système réticulé

Réticulation des macromolécules d'amidon à l'aide de di- et tri- acrylates.

Fig. 21

VI-1-3- 4 Synthèse d'amidon photoréticulé : relations structure / propriétés

L'analyse des problèmes rencontrés avec les matériaux à base d'amidon, élaborés jusqu'ici a fait apparaître qu'à l'origine des " mauvaises " propriétés de ces matériaux, on pouvait trouver plusieurs facteurs comme : la recristallisation rapide, l'absorption très importante d'eau, l'enchevêtrement limité des macromolécules... L'un des moyens retenus pour agir sur ces trois facteurs simultanément consiste à réticuler les macromolécules d'amidon par une faible proportion de ponts inter- et/ou intra-moléculaires. Ces changements de structure au niveau moléculaire risquant de bouleverser profondément les propriétés rhéologiques de la matière (analogie avec les polymères durcissables), il était nécessaire de les faire intervenir à posteriori afin de profiter de la facilité de mise en forme de la formulation à base d'amidons natifs.

Cette étude a été entreprise afin de mesurer l'impact de la réticulation photochimique des macromolécules sur les propriétés physico-chimiques et mécaniques de films d'amidon de blé ainsi que leur évolution dans le temps (Thèses J. Delville, N. Follain). Le but de ce travail est de modifier les propriétés de ce biomatériau par un mécanisme de **photoréticulation à l'état solide** après extrusion et mise en forme. Les propriétés telles que performances mécaniques, stabilité dimensionnelle, résistance à l'humidité et dans le temps sont alors susceptibles d'être modifiées. Concrètement, il s'agit ici de réaliser un système photoamorçable en ajoutant à la formulation d'amidon initiale (amidon et plastifiant) un agent de réticulation et un photo-amorçeur. Cette formulation est ensuite extrudée puis mise en forme sans réaction thermique parasite, afin que le pontage entre les macromolécules puisse s'effectuer, à posteriori sous irradiation ; conférant ainsi les propriétés requises à **l'objet fini** (fig. 20). L'étude a été menée à la fois sur des systèmes ternaires - amidon/amorceur/agent de réticulation - mais également sur des systèmes binaires plus simples - amidon/amorceur.

VI -1 - 3- 5 Systèmes ternaires : amidons modifiés / photoamorceurs / acrylates.

Le choix des agents de réticulation, des photoamorceurs et des conditions d'irradiation est le suivant (soulignons que très peu de systèmes étudiés sont traités photochimiquement à l'état solide, à notre connaissance) :

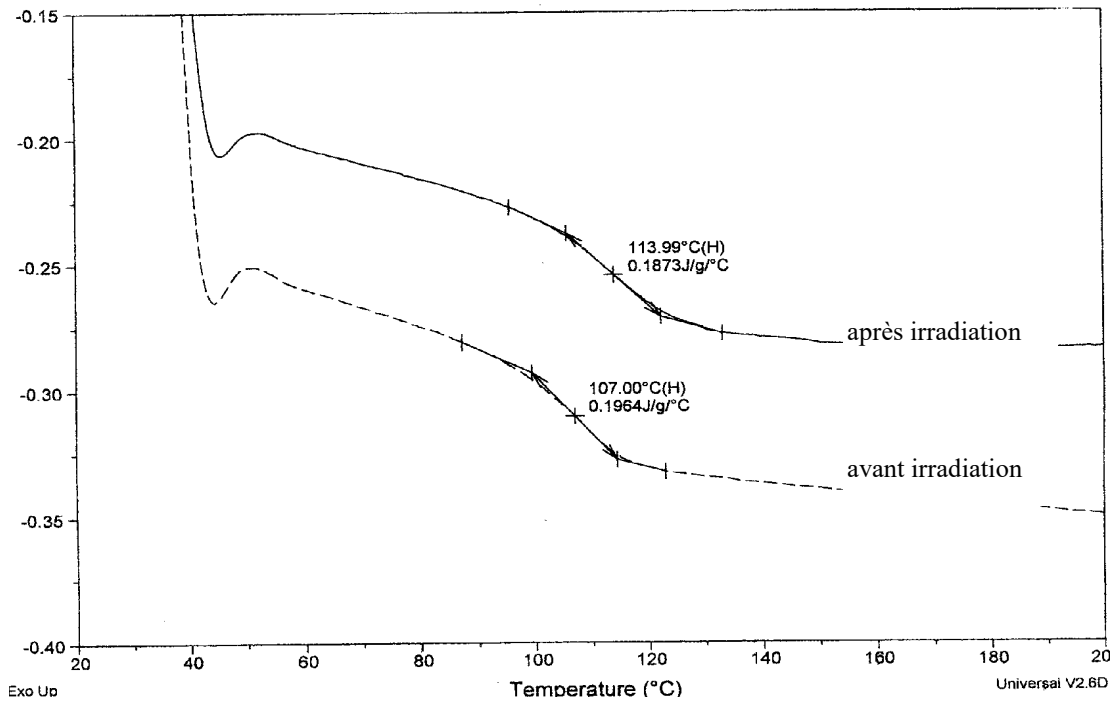
- Les agents de réticulation ou agents pontants retenus sont porteurs de 2 ou 3 fonctions acrylates (fig. 21). Leur réactivité photochimique a fait l'objet de nombreuses publications.
- Les photoamorceurs sont des agents commerciaux dont les fonctions ou les cibles sont différentes. Ce sont,
    - ∗ soit des abstracteurs d'hydrogène dont l'action serait principalement ciblée sur la macromolécule d'amidon (création de macroradicaux)
    - ∗ soit à la fois des amorceurs de radicaux acrylates et des macroradicaux amidon.
- La longueur d'onde d'irradiation UV retenue est de 350 nm. A plus faible longueur d'onde (254 nm), il y a risque de forte dégradation de l'amidon et production d'ozone.

$M^{\cdot}$ + R-OC=O-CH=CH_2 ---------X-----> (pas de réaction)

$M^{\cdot}$ + (R-OC=O-CH-CH2-R')$^{\cdot}$ ----------> M- (R-OC=O-CH-CH2-R')

Couplage d'un macroradical avec un radical vinyle par recombinaison.

Fig 22



Modification de la température de transition vitreuse après irradiation d'amidon acétylé

Fig. 23

En ce qui concerne les mécanismes radicalaires mis en jeu, l'étude bibliographique réalisée nous permet de retenir l'hypothèse suivante : un macroradical créé par amorçage photo-chimique ne serait pas en mesure d'amorcer l'activation de la double liaison acrylate de l'agent de réticulation. Il y aurait réticulation effective uniquement par terminaison, c'est-à-dire par couplage de radicaux formés séparément, d'une part sur le macroradical et d'autre part sur la liaison vinylique (fig. 22). Les premiers travaux conduits dans ce cadre au laboratoire ont été menés sur l'acétate d'amidon de DS3 précédemment synthétisé. Cet amidon modifié permet une mise en oeuvre aisée par casting, c'est-à-dire par dissolution dans le chloroforme puis évaporation, et ceci sur des quantités de l'ordre de quelques grammes.

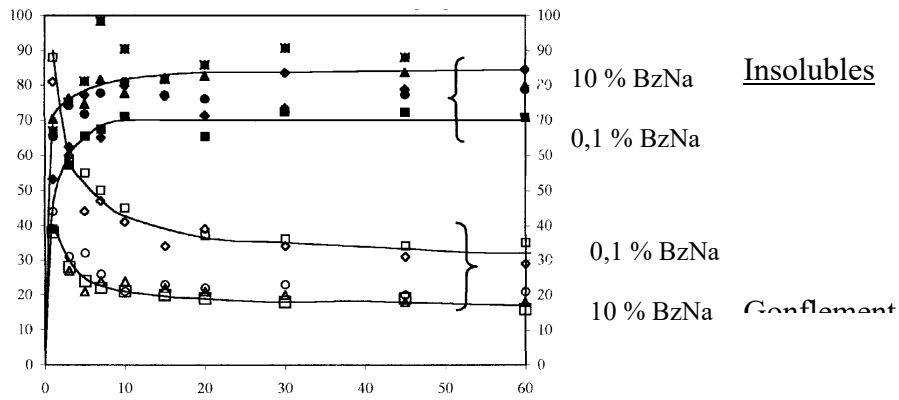
Ces premiers travaux ont conduit à tester différents systèmes de complexité croissante : système binaire (amidon modifié + photoamorceur), système ternaire (amidon modifié + photoamorceur + agent de réticulation) développés ci-dessous. En outre, l'ajout de plastifiant augmente ce degré de complexité. Les films obtenus par casting dans le chloroforme avec des teneurs croissantes en additifs (0,5 à 10 % molaire par rapport au monomère anhydroglucose) sont après irradiation, insolubles dans ce même solvant ; ils seraient alors réticulés selon un mécanisme actuellement à l'étude. L'analyse calorimétrique différentielle (DSC) montre bien une augmentation de la température de transition vitreuse (Tg) de 5°C avant / après irradiation ce qui va bien dans le sens d'une réticulation (fig. 23). Cependant, les réactivités compétitives plastifiant / amorceur sous irradiation sont très probables. Ces réactions peuvent conduire à des modifications de la Tg dans un sens ou dans l'autre par modification du plastifiant qui ne joue plus le même rôle (plastifiant greffé à la matrice ou polymérisé ?). Les analyses thermiques habituellement utilisées dans le domaine de polymères synthétiques plus classiques sont complexes à interpréter avec ces polysaccharides.

VI-1-3-6 Films d'amidons natifs photoréticulés à l'état solide : Une nouvelle famille d'amidons réticulés.

L'utilisation de la benzophénone en tant que photo-amorceur sur le système témoin -acétate d'amidon / benzophénone - ayant montré que le film irradié devenait insoluble dans le chloroforme sans avoir besoin de rajouter d'agent de pontage di- ou tri-acrylate, nous nous somme tournés vers des **systèmes binaires : amidon natif / photoamorceurs** plus simples. L'utilisation de la benzophénone comme photoamorceur dans les films d'amidon natif a montré qu'on obtenait après 20 mn d'irradiation un film qui non seulement ne se décomposait pas dans l'eau mais devenait également partiellement insoluble dans le DMSO. Un autre photoamorceur, de la famille des aryl-carbonyle - le benzoate de sodium -, ayant été utilisé avec succès pour la réticulation d'autres systèmes polymères à base d'alcools polyvinyliques (Takakura et al. *Polymer Science* 9, 1965, 3217-3224), son hydro-solubilité et sa compatibilité avec un milieu très hydrophile permettant de le mélanger très facilement en milieu amidon plastifié, nous a incité à l'utiliser dans notre étude.

film non irradié soluble film irradié insoluble

Effet de l'irradiation d'un film d'amidon formulé sur la solubilité dans l'eau. : Fig. 24



Evolution des taux d'insolubles (haut) et degrés de gonflement (bas) avec la réticulation.

Fig. 25

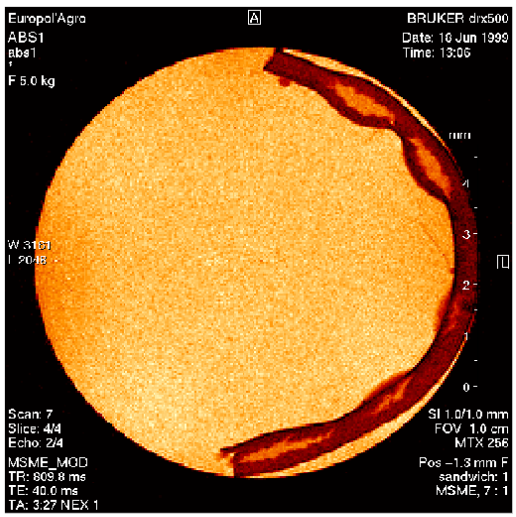


Image RMN d'un échantillon de film de 250 microns irradié double face gonflé dans l'eau.

Fig. 26

La réticulation de systèmes amidon / plastifiant / benzoate de sodium a immédiatement montré des résultats de réticulation très intéressants : les systèmes présentent des taux de gonflement et des taux d'insolubles dans le DMSO bien supérieurs à ceux obtenus avec la benzophénone. Avant irradiation, tous les films formulés à base d'amidon se délitent après quelques minutes dans l'eau et ils sont complètement solubles dans le DMSO.

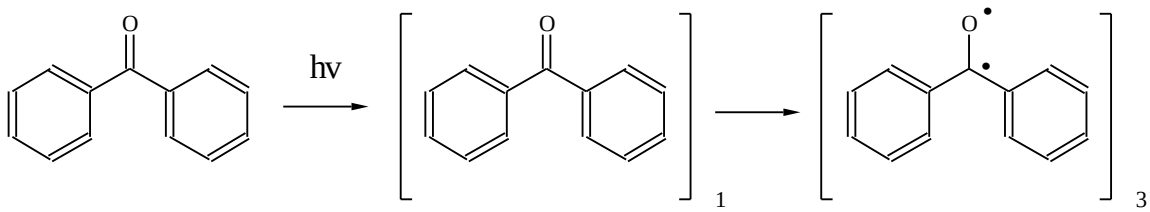
Après quelques minutes d'irradiation, ils deviennent insolubles dans l'eau, ils gonflent et conservent leur forme indéfiniment tant qu'ils sont protégés d'une attaque enzymatique ou microbienne (fig. 24). Ils deviennent également insolubles dans le DMSO.

Afin de suivre les cinétiques de réticulation à l'état solide, et de manière tout à fait similaire à d'autres études de polymères réticulés, le protocole de mesure adopté a consisté en une détermination du taux de gonflement ainsi qu'une mesure de la fraction d'insoluble dans le DMSO. Typiquement, la cinétique de réticulation d'un film (fig. 25) montre un accroissement rapide du taux d'insoluble et une diminution simultanée du degré de gonflement jusqu'à l'apparition d'un plateau au bout de quelques minutes d'exposition, ce qui est caractéristique de la formation d'un réseau macromoléculaire tridimensionnel. Au temps zéro les films sont totalement solubles dans le DMSO et le degré de gonflement est infini. Au fur et à mesure de l'irradiation la fraction de gel GF (insoluble) augmente et l'on observe une diminution concomitante du degré de gonflement SD jusqu'à l'obtention d'un plateau. Les degrés de gonflement obtenus vont de 10 à 80 avec une fraction de gel de 70 à 90 % pour des temps d'exposition allant de 1 à 10 minutes en utilisant des intensités d'irradiation allant de 34 à 100_mW/cm^2 à λ 365 nm.

Les films sont préparés par casting dans l'eau ou par extrusion dans une monovis (trois zones 100, 110 et 115 °C) en ajoutant les quantités nécessaires de plastifiants (glycérol, sorbitol, PEG, PVA..., 5 - 30 %) et d'activateurs photochimiques (benzoate de sodium ..., 0,1-10%). Les films obtenus sont transparents. Ils sont équilibrés en eau dans une atmosphère à humidité contrôlée (HR 57 %) en raison des propriétés d'hydrophilie du matériau, avant irradiation et avant toute mesure des propriétés. La profondeur efficace de pénétration des UV pour la réticulation étant de l'ordre de 100 microns pour une formulation moyenne contenant 17 % de plastifiants et 3 % d'activateurs photochimiques par rapport à l'amidon sec, ce qui conduit à une épaisseur maximale de ces films de 200 microns pour une exposition double-face. Il est possible de mesurer la profondeur de réticulation en imagerie RMN (fig. 25) où l'on observe les deux faces réticulées d'un film de 250 microns qui se dissocient l'une de l'autre par le milieu tout en restant solidarisées sur les bords.

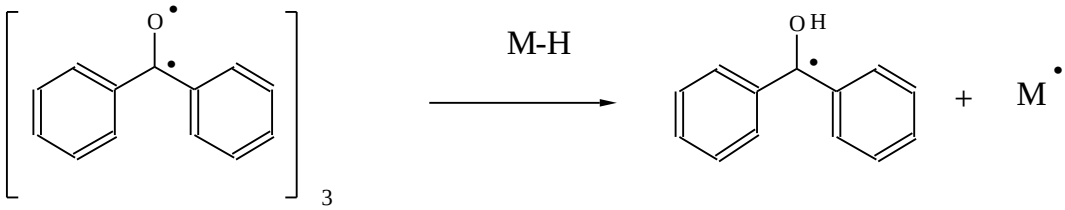
Les différents paramètres étudiés sont le temps d'obtention du plateau, la fraction de gel et le degré de gonflement. Avec la benzophénone les taux d'insolubles obtenus ne dépassent pas 65 % alors que dans les systèmes avec le benzoate de sodium, ils montent rapidement à 85 % et les cinétiques sont beaucoup plus rapides. La meilleure compatibilité chimique (hydrosolubilité) du sel d'acide benzoïque permet certainement une solubilisation plus facile

Activation



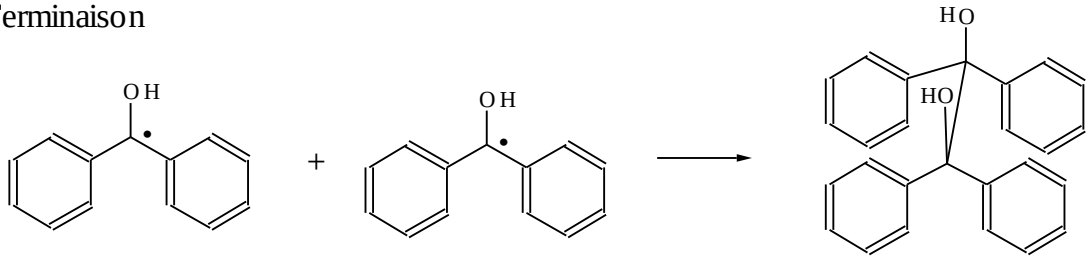
Abstraction d'hydrogène

Biradical

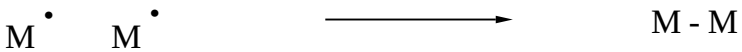


Monoradical benzophénone Macroradical

Terminaison



Recombinaison du radical benzophénone en benzopinacol



Recombinaison des macroradicaux

Mécanisme de réticulation par recombinaison de macroradicaux avec la benzophénone

Fig. 27

ainsi qu'une meilleure diffusion au sein du matériau conduisant à une efficacité accrue de la réticulation. Le degré de gonflement est une bonne indication de la densité de réticulation qui reste faible comparée aux polymères thermodurcissables qui sont typiquement de l'ordre de 0,1 à 0,4, mais qui restent bien meilleurs que ceux rencontrés dans le domaine des biopolymères comme la cellulose ou des amidons modifiés.

D'autres dérivés de l'acide benzoïque comme des coumarates, férulates, résorcinates, cinnamates, téréphtalates, salicylate ..., ont également été testés mais aucun n'a montré de résultats améliorés par rapport au benzoate.

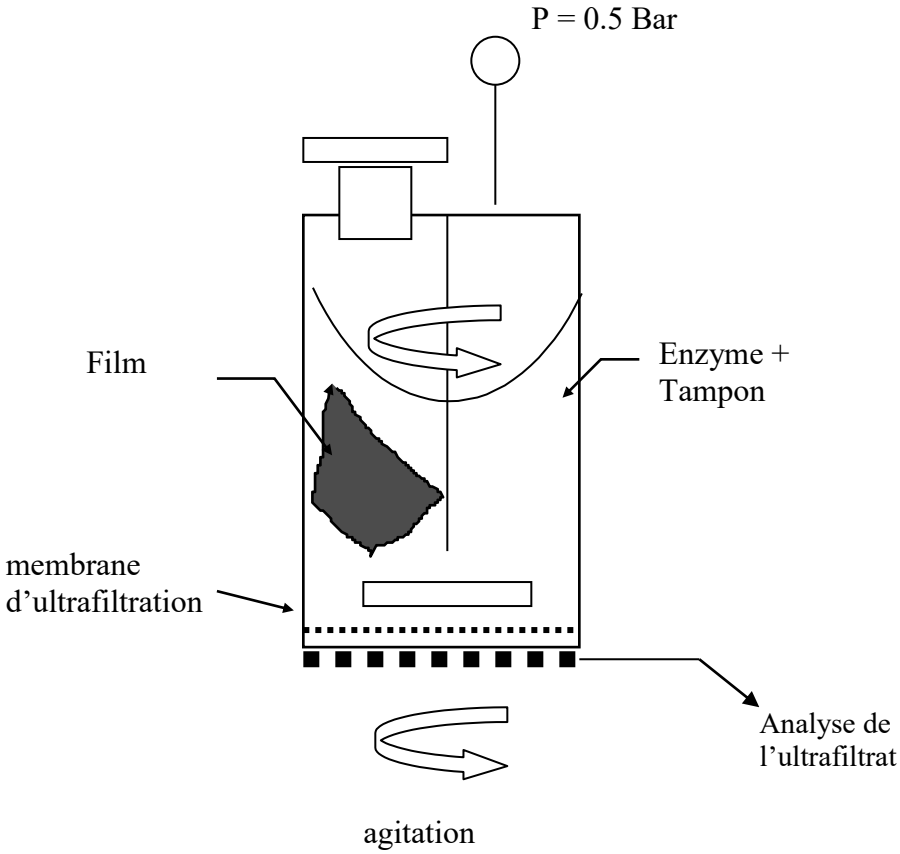
Le mécanisme de la réaction de réticulation passe probablement par une étape de création d'un macroradical sur le polysaccharide par l'action d'un état excité du photoamorceur (biradical ou état triplet). C'est la création d'une nouvelle liaison formée par recombinaison de deux macroradicaux qui serait à l'origine de la création du réseau tridimensionnel. Dans le cas de la benzophénone, l'abstraction d'hydrogène à partir d'un biradical conduit à un monoradical stabilisé qui peut réagir sur lui même dans une réaction de terminaison (fig. 27). Le benzoate de sodium, quant à lui, est connu pour se photolyser sous UV conduisant à des espèces radicalaires qui peuvent créer à leur tour des macroradicaux par abstraction d'atomes d'hydrogène sur le polysaccharide .

Influence de la fraction massique des différents composants :

- **Influence du photosensibilisateur :** en faisant varier la proportion de benzoate de sodium de 0,1 à 10 % les taux d'insolubles obtenus ne varient que de 70 à 80 % et semblent très peu dépendants de la quantité de photosensibilisateurs. Par contre, en ce qui concerne les degrés de gonflement, on peut nettement distinguer deux groupes : l'un correspondant aux faibles taux de photosensibilisateurs (0,1 à 3 %) présentant les cinétiques les plus rapides et les degrés de gonflement les plus faibles (15) et l'autre correspondant aux taux les plus forts (7 à 10 %) présentant une cinétique plus lente et des taux de gonflement plus forts (30). Dans le cas du second groupe on peut considérer que l'on commence à assister à un effet d'écran dû à la proportion excessive de photosensibilisateur limitant la pénétration de la radiation et conduisant probablement à un gradient de réticulation (fig. 26). Un faible taux de photosensibilisateurs (0,1%) est suffisant et l'on n'améliore pas la réticulation en augmentant la proportion de photosensibilisateurs.

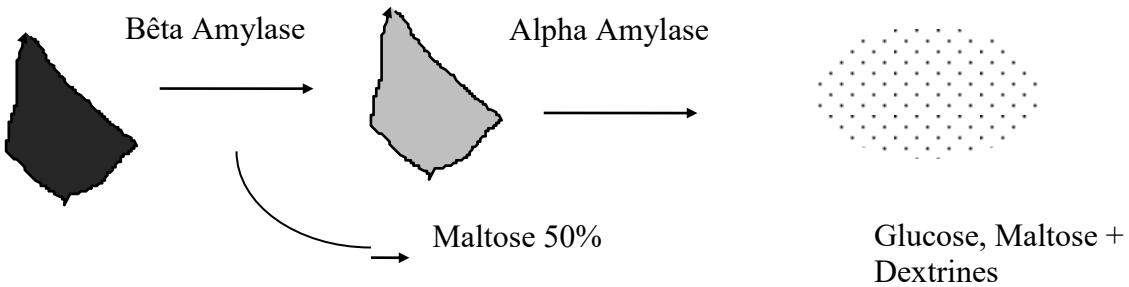
- **Influence du plastifiant :** la soude, ajoutée en tant qu'agent plastifiant, joue un rôle dans la déstructuration de l'amidon en aidant à " solubiliser " des zones cristallines de

l'amylopectine par rupture des réseaux de liaisons hydrogènes inter et intramoléculaires. Une amélioration très nette de l'efficacité de la réticulation est notée, particulièrement dans le cas où un plastifiant moins efficace comme le



Mesure de la dégradation enzymatique d'amidon photoréticulé par ultrafiltration frontale agitée

Fig. 28.



Conservation de la structure tridimensionnelle du film après dégradation bêta-amylasique et digestion alpha-amylasique.

Fig. 29.

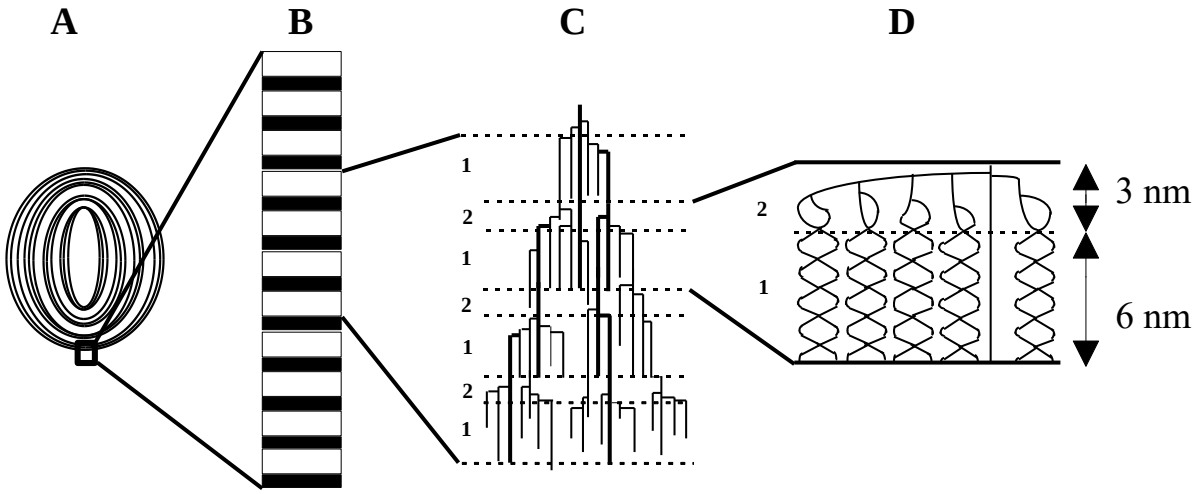
Biodégradabilité :

Quelques essais ponctuels de dégradation enzymatique ont été effectués, en utilisant à la fois des exo- et des endo-enzymes (bêta amylase, alpha amylase, amyloglucosidase pullulanase) dans une cellule d'ultrafiltration frontale agitée (fig. 28). Ces tests ont montré la même limite de dégradation qu'avec un échantillon témoin non réticulé. Ce résultat tend à confirmer le faible nombre de liaisons engagées dans les ponts de réticulation et fournissent de bons espoirs quant à la conservation de la biodégradabilité finale du matériau.

Par ailleurs, il est intéressant de noter qu'après digestion bêta-amylasique, et malgré l'étendue de la dégradation (50 %), le film conserve toujours sa structure tridimensionnelle (gel) ; à l'inverse, l'action d'une endoenzyme va rapidement causer l'effondrement de cette structure tridimensionnelle jusqu'à la dissolution (fig. 29). Ces résultats vont bien dans le sens d'une réticulation par recombinaison macromoléculaire.

Applications : Brevet " films d'amidon photoréticulés "

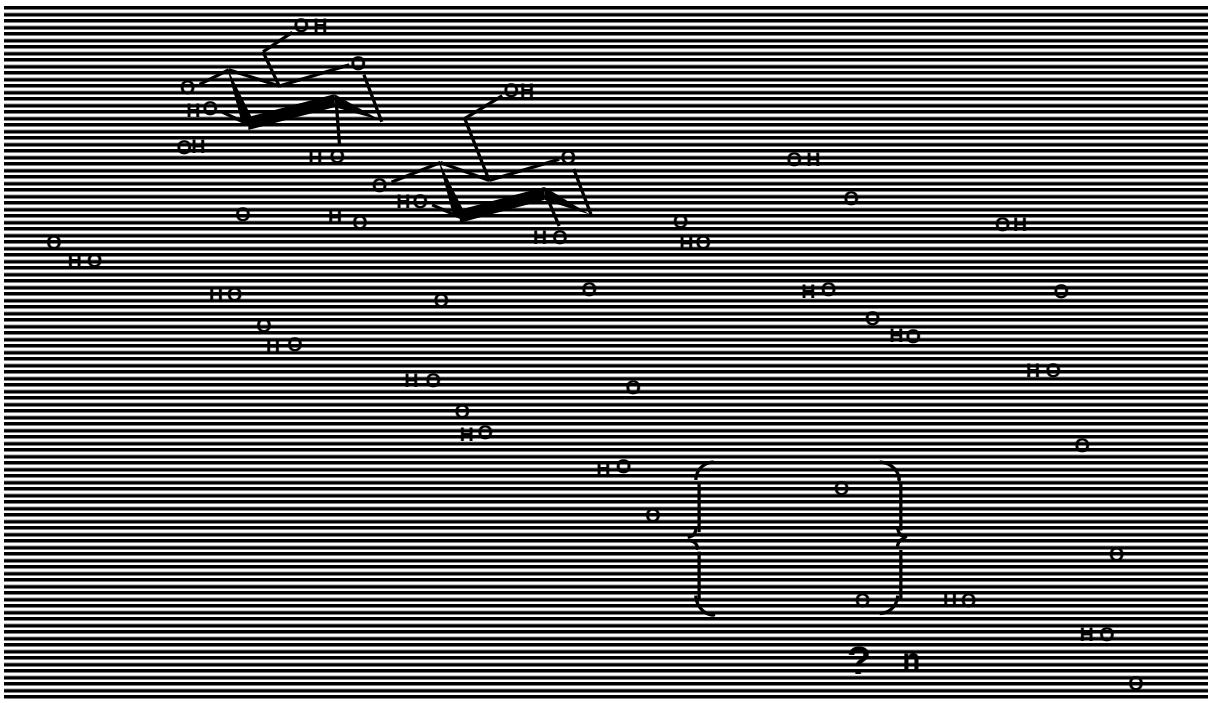
Le résultat de cette étude nous a permis de déposer un **brevet d'invention** sur la fabrication de cette nouvelle famille d'amidons réticulés (brevet N° 0005652 du 03 mai 2000 reconduit en 2001). Ce nouveau matériau pourrait trouver des niches d'applications dans les domaines des hydrogels neutres, des épaississants et du relargage contrôlé de substances actives par exemple, en faisant simplement varier les temps de réaction.



Les différents niveaux d'organisation du grain d'amidon

A : anneaux de croissance du granule, B : lame cristalline, C: grappe, D : lamelle répétitive (9 nm)

Fig. 30



Distance séparant les différentes ramifications ou groupes de ramifications :

contiguës alterne, groupées, aléatoire ?

Fig. 31

VI -1-3-7 Structure de l'Amylopectine.

La plupart des études portant sur de nouvelles utilisations de l'amidon souffrent du même handicap - la connaissance incomplète de la structure primaire de son constituant majeur : l'amylopectine, et dans une moindre mesure l'amylose. Il est intéressant de noter que bien que les différences structurales entre ces deux constituants aient été reconnues très tôt (ramifié pour le premier et linéaire pour le second), les différents modèles développés successivement pour décrire l'organisation intrinsèque des chaînes au sein de l'amylopectine restent encore très incomplets. En effet, ces modèles ne permettent toujours pas d'expliquer certaines particularités couramment observées entre les amylopectines d'origine botanique différente.

Par exemple, il n'existe encore aucun modèle permettant d'expliquer l'origine d'un résultat connu depuis 1920 qui est l'existence des deux types de diagrammes de diffraction des rayons X dit " A " et " B " respectivement pour les amidons natifs de céréales et de tubercules. Ces diagrammes ont néanmoins pu être corrélés avec des organisations de maille cristalline correspondant à deux réseaux différents d'empilement des doubles hélices de chaînes amyloïdes (Wu H.C.H., Sarko A. 1978, Carbohydr. Res. 61, 7-25 ; Imberty et al, J. Mol.

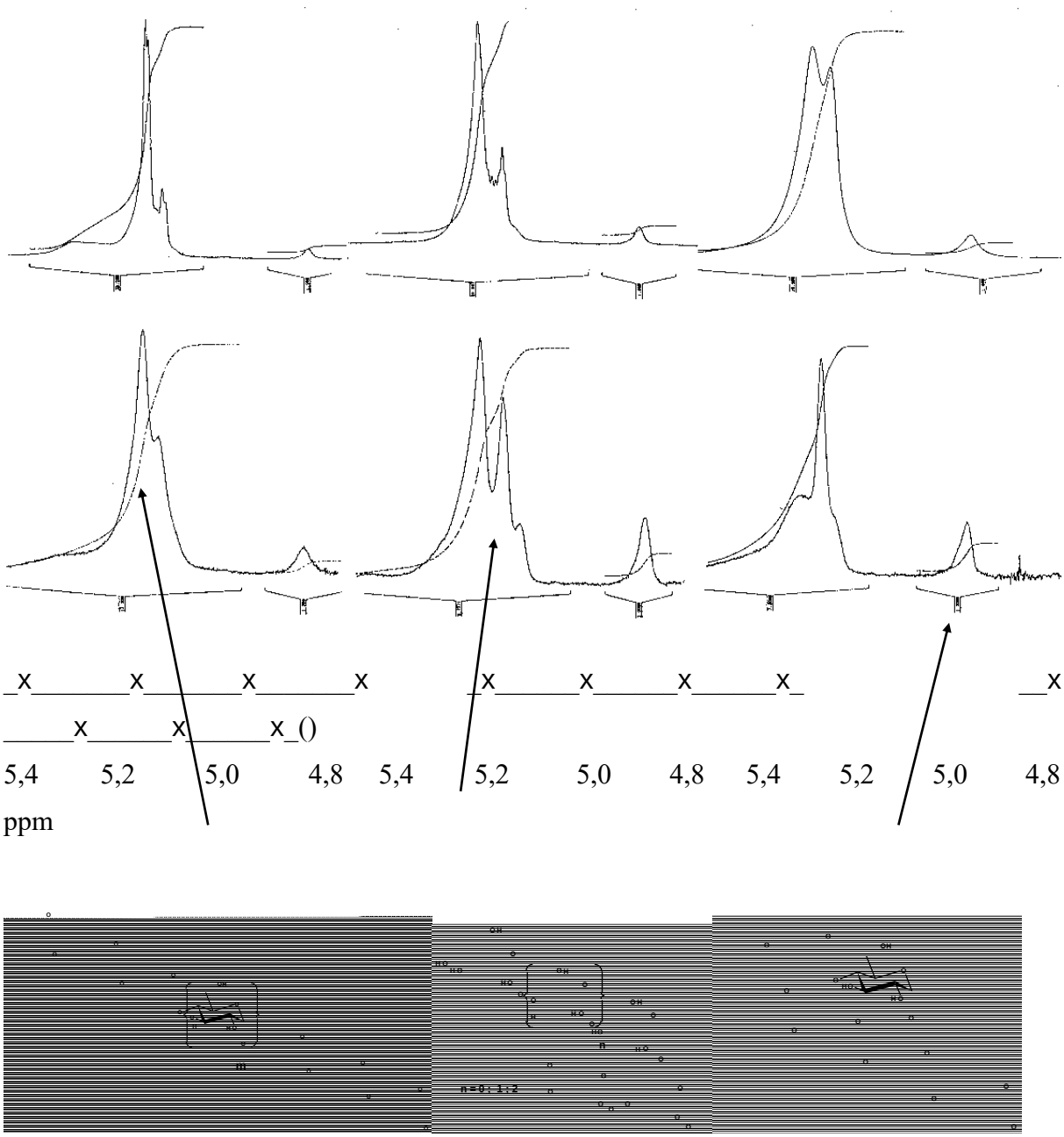
Biol. 1988, 201, 365-378). Les modèles récents (Ball et al. , 86,349-352, 1996) mettent en avant l'importance primordiale d'un mécanisme concerté de ciselage enzymatique de la molécule d'amylopectine dans la construction de l'édifice cristallin. La fig. 30 montre les différents niveaux d'organisation à une échelle allant du micron au nanomètre, A : grain , B : lamelles, C : " clusters ", D : doubles hélices.

L'un des paramètres essentiels qui reste encore à élucider concerne les distances intramoléculaires (nombre de motifs monomères) séparant différents points de ramification (fig. 31) et leur répartition au sein de la molécule. L'analyse de la localisation et la répartition de ces distances inter-branches, qui constituent la " charpente " de la molécule, devrait permettre de mieux comprendre l'origine de l'organisation des macrostructures dans les différentes amylopectines. Malheureusement, les techniques d'analyse structurale ne permettent jusqu'ici d'accéder qu'à des valeurs qui sont des moyennes macroscopiques de ces distances. Il est étonnant de voir, à une époque où les structures tridimensionnelles exactes de protéines de plus en plus nombreuses sont connues avec tant de précision, qu'il n'existe encore pas de modèle simple permettant de décrire la structure primaire de macromolécules aussi communes avec plus de précision !

La distribution non-aléatoire des ramifications de l'amylopectine, de par l'organisation tridimensionnelle qu'elle conditionne, détermine la plupart des propriétés physico-chimiques et technologiques qui caractérisent les amidons extraits par les agro-industries. La connaissance de cette distribution revêt donc un enjeu économique considérable. L'accès à cette donnée pourrait permettre de corréler les différents paramètres technologiques, caractérisant des amidons utilisés par les agro-industries, à des structures primaires et secondaires des macromolécules constituant ces amidons.

A **W** **G**

digestion bêta-amylasique



Comparaison des spectres RMN proton H-1 pour l'amidon de blé (A), l'amylopectine waxy (W) et de glycogène (G) (haut) avec les dextrines bêta-limites correspondantes (bas).

Fig. 32

VI -1-3-8 " Vers une compréhension de l'édification du cristal d'Amylopectine "

Une collaboration inter-équipes, dans le cadre des programmes de recherche P.C.V. du CNRS, Physique et Chimie du Vivant conjointement avec nos collègues de l'UMR 111 : le Pr. S. G. Ball et le Dr. Strecker DR2 CNRS : " *Vers une compréhension de l'édification du cristal d'Amylopectine "* nous a permis d'initier une étude allant dans ce sens.

Cette étude consiste à analyser par une approche pluridisciplinaire la distribution **des distances séparant les points de ramification** des motifs de branchement et à étudier une implication éventuelle de branchements inhabituels.

La comparaison des spectres de RMN du proton dans la zone 4,5 - 5,5 ppm de trois substrats amidon de blé, amylopectine de maïs waxy, et glycogène avec les dextrines bêta-limites correspondantes est présenté en fig. 32. On peut noter dans les trois exemples l'augmentation relative de la proportion du proton H1 à 4,8 ppm correspondant au branchement (1->6) et dont le dosage permet la quantification des motifs " glucose branchant " des ramifications.

Par ailleurs dans l'amylopectine (et l'amidon) le groupe de pics allant de 5,15 à 5,2 correspond aux fréquences de résonances des protons H1 des résidus des extrémités non-réductrices bien résolues quand elles sont éloignées des points de ramification et qui deviennent moins bien résolues dès que la digestion bêta-amylasique apporte une plus grande variété de longueurs de chaînes (1, 2 ,3 , 4..) au voisinage de la ramification. Dans les trois exemples, la fréquence de résonance correspondant au motif répétitif moyen " amylosyl- " à 5,21-5,23 ppm qui se trouve dans une position éloignée à la fois des extrémités et des " accidents " de type ramification, est très fortement diminuée. Ce résultat est particulièrement flagrant dans le cas du glycogène où ce pic disparaît presque. On peut également remarquer la présence d'autres fréquences de résonance à 5,12 et 5,4, non-encore attribuées présentes dans l'amylopectine et le glycogène (et que l'on commence à deviner avec la dextrine de l'amidon) mais dont l'importance augmente avec la digestion bêta-amylasique.

Les expériences hétéronucléaires carbone-proton permettent de corréler les pics de fréquence de résonance en carbone correspondant à ces différents motifs. Néanmoins, l'étude effectuée sur les substrats natifs n'a pas permis d'obtenir une résolution suffisante pour attribuer des corrélations longues distances inter-résidus au travers de la liaison glycosidique (nécessité de travailler à haute température, mauvaise résolution due à la viscosité des solutions dans le DMSO). De même, malgré l'accumulation de très nombreuses expériences, il n'a pas été possible de confirmer ou d'infirmer l'existence de liaisons " exotiques " (1->2 ou 1->3). Ces mêmes analyses conduites sur ces produits après peracétylation devraient nous

permettre d'augmenter considérablement la résolution des spectres et d'analyser cette fois la nature des enchaînements de plusieurs résidus glucoses voisins.

IV -2 Projet s de recherche : Conclusion et perspectives .

Dans ce travail de recherche au sein du laboratoire, je me suis employé à créer une activité de synthèse dans le domaine de la chimie des glycosides et des polysaccharides. Les outils de la synthèse des glycosides, des saponines et de tensioactifs - la préparation d'oligosaccharides et les réactions de condensation -, sont maintenant bien maîtrisés. Les aspects structuraux sont étudiés notamment par le biais de la RMN.

La création d'une nouvelle activité ainsi que cette orientation vers de nouveaux thèmes de recherche a nécessité pour moi un investissement supplémentaire. Celles-ci commencent aujourd'hui à porter leurs fruits avec des contributions sous la forme de publications fondamentales. Le domaine des matériaux commence à donner des résultats concrétisés par des prises de brevets. De plus, les travaux effectués en collaboration avec des équipes possédant des expertises dans des spécialités voisins de la chimie comme la biochimie, la microbiologie et la science des matériaux, m'ont permis d'appliquer mes connaissances à l'interface de ces domaines.

Par ailleurs, mon implication dans le développement de la recherche de nouveaux produits et procédés agro-industriels m'a permis d'entrer en contact avec deux mondes différents du monde accadémique que sont le monde agricole et le monde industriel.

Le monde agricole, confiné presque exclusivement dans la position de producteur de matières premières destinées au seul marché fragile de l'alimentaire, commence à diversifier ses activités et développe par exemple des transformations de la matière végétale après fractionnement vers des domaines nouveaux comme l'énergie, les tensioactifs et les matériaux. Un tel changement de culture, créateur potentiel d'activités, nécessite un apport de nouvelles compétences où la recherche publique peut apporter un soutien précieux. Dans mon cas, celui-ci peut venir sous la forme de la compréhension des structures de base au niveau moléculaire et de la description des phénomènes physico-chimiques fondamentaux qui régissent les transformations de la matière végétale et conditionnent les propriétés des produits finis.

Cette contribution, qui doit permettre le développement de nouveaux débouchés aux produits d'origine agricoles, est bien encouragée par les collectivités sous la forme de financements (bâtiments, bourses, équipements et fonctionnement sont fournis en appui de programmes).

De même, le monde industriel semble vouloir s’engager de plus en plus dans ce sens en partageant avec le monde académique l’étude de thématiques d’intérêt commun.

Cette nouvelle dynamique fait écho à la nouvelle réflexion de l'Université qui tend à élargir ses activités vers des créneaux plus proches de la réalité industrielle où les scientifiques français sont de plus en plus présents.

VI- 3 Coopérations Industrielles

- ARD Agro-industrie, Recherche et Développement, Pomacle, 51.
- LVMH
- DIOR
- CHANTOR, Bazancourt, 51.
- CRESPEL & DIETERS, Allemagne et France.

VI-4 Programmes nationaux

- Investigateur d'un projet de recherche Agrice de l'ADEME en partenariat avec l'INRA, -Reims, -Jouy en Josas, -Nantes, l'ENSTC -Toulouse et L'ESIEC - Reims.
  Titre : *Amidon multicouche,* date : 1999 durée 2 ans.
- Investigateur d'un projet de recherche Agrice de l'ADEME. en partenariat avec Dr. J. Cléophax (ICSN, CNRS, UPR 2301), Dr. A. Loupy, CNRS, UMR 8615.
  Titre : *Tensioactifs d'origine agricole biodégradables,* date : 1998, durée : 2 ans.
- Investigateur d'un programme de recherche P.C.V. du CNRS, Physique et Chimie du Vivant avec deux équipes de l'UMR 111 : Pr. S. G. Ball et le Dr. Strecker DR2, CNRS.

Titre :*Vers une compréhension de l'édification du cristal d'Amylopectine,* date 1998, durée 2 ans.

VI-5 Collaborateurs nationaux et internationaux

Pr. Y. Couturier (URCA, ESIEC, Université Reims) - Dr. L. Averous (ESIEC, URCA, Université Reims) - Dr. M. Nieddu (Fac. Sc. Eco., URCA, Université Reims) - Pr. F. Duchiron (Faculté des Sciences, URCA, Reims) - Pr. M. Mathlouthi (Faculté des Sciences,

URCA, Reims) - Dr. R. Douillard (INRA, CRA Reims)- Dr. A. Olesker (ICSN, CNRS, UPR 2301, Gif/Yvette) - Dr. J. Cléophax (ICSN, CNRS, UPR 2301, Gif/Yvette) - Dr. A. Loupy (CNRS, UMR 8615, Université Paris XI) - Dr. F. Bonté (Laboratoire DIOR) - Dr. A. Saunois (LVMH recherche) - Dr. P. Colonna (LBTG, INRA, Nantes) - Dr. V. Planchot (LBTG, INRA, Nantes) - Dr. D. Lourdin (LBTG, INRA, Nantes) - Pr. S. Ball (URA 111, CNRS, USTL, Villeneuve D'Ascq) - Dr. G. Strecker (URA 111, CNRS, USTL, Villeneuve D'Ascq) - Pr. E. Borredon (ENSTC, Toulouse) - Pr. P. Krausz (Université de Limoges) - Dr. M.A. Delooze (INRA, SERD, Grenoble) - Dr. P. Dole (INRA, Reims) - Dr. A. M. Riquet (INRA, Jouy en Josas) - Pr. P. Herczegh (Université de Debrecen, Hongrie) - Pr. P.V. Cutsem (Université Notre Dame de la Paix, Namur, Belgique) - Dr. D. Ngnokam (Université de Dschang, Cameroun) - Dr. K. Ghedira (Faculté de Pharmacie, Université de Monastir, Tunisie) - Pr. S Castillon (Universitat de Barcelona, Tarragona)

VII TRAVAUX SCIENTIFIQUES

LISTE CHRONOLOGIQUE

VII - 1 Publications Internationales

PI 1 - *Synthesis of C-2"β- and C-2"α-Fluoro Avermectin B_{1a}*, **C. BLIARD**, F. CABRERA-ESCRIBANO, G. LUKACS, A. OLESKER and P. SARDA, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 368-370.

PI 2 - *Synthesis of Derivatives of 2,6-dideoxy-2,2- difluoro-3-0-méthyl -L-arabino pyranose (2,2-difluorooleandrose),* **C. BLIARD**, P. HERCZEGH, A. OLESKER and G. LUKACS *J. Carbohydrate Chemistry*, **1989**, 8, 103-113.

PI 3 - *Contribution à l'étude chimique des Sapindaceae. Examen de la saponine de Pappea capensis*, M. KAPUNDU, G. BIALA, **C. BLIARD** et C. DELAUDE, *Bull. de la Soc. Royale des Sciences de Liège*, **1991**, 6, 387-389.

PI 4 - *A new and extremely fast synthesis of 2-deoxy-2, 2-difluoro-D-arabino -hexose (2-deoxy-2, 2-difluoro-D-glucose),* A. EL-LAGHDACH, M. I. MATHEU, S. CASTILLON, **C. BLIARD**, A. OLESKER and G. LUKACS. *Carbohydrate Research*, 233, **1992**, C1 - C3.

PI 5 - *Amygdalin as Building Block in Oligosaccharide Synthesis*, **C. BLIARD**, G. MASSIOT and S. NAZABADIOKO, *Tetrahedron Letters*, **1993**, 34, 5083-5084.

PI 6 - *Glycosylation of Acids under Phase Transfer Conditions. Partial Synthesis of Saponins,* **C. BLIARD**, G. MASSIOT and S. NAZABADIOKO, *Tetrahedron Letters*, **1994**, 35, 6107-6108.

PI 7 - *Sapelenin D, a new acyclic triterpenoid from the Stem Bark of Entandro-phragma cylindricum,* D. NGNOKAM, G. MASSIOT, **C. BLIARD** and E. TSAMO, *Natural Product Letters*, 5, **1995**, 289-293.

PI 8 - *Structural revision of Isoeudistomin-U by total Synthesis*, G. MASSIOT, S. NAZABADIOKO and **C. BLIARD**, *J. Nat. Product* , 58 , **1995**, 1636-1639.

PI 9 - *Proton NMR Spectoscopy Assignment of D-Glucose Residues in Highly Acetylated Starch.* B. LAIGNEL, **C. BLIARD**, J. M. NUZILLARD, et G. MASSIOT, *Carbohydrate Research* , 298 , **1997**, 251-260

PI 10 - *Potential Antiviral Agents. Part II., Synthesis and Antiviral Evaluation of Pyrazinones Substituted with Acyclic Chains*, J. DAVIS, R. BENHADDOU, O. FEDIORAK, R. GRANET, P. KRAUSZ, **C. BLIARD**, M. DEMONTE, A. M. AUBERTIN, *Nucleosides & Nucleotides*, 17, **1998**, 1489-1504

PI 11 - *Genetic and biochemical evidence for the involvement of a-1,4 glucano-transferases in amylopectin synthesis.* C. COLLEONI, D. DAUVILLEE, G. MOUILLE, A. BULEON, D. GALLANT, B. BOUCHET, M. MORRELL, M. SAMUEL, B. DELRUE, C. D'HULST, **C. BLIARD**, J. M. NUZILLARD, and S. BALL, *Plant Physiology* , 120, **1999**, 993-1003.

PI 12 -*The debranching enzyme complex missing in glycogen accumulating of Chlamidomonas Reinardtii Displays an Ìsoamylase-Type Specificity*, D. DAUVILLÉE, V. MESTRE, C. COLLEONI, M. C. SLOMIANY, G. MOUILLE, B. DELRUE, C. D'HULST, **C. BLIARD**, J.-M. NUZILLARD, and S. BALL, *Plant Science*. 157(2) :145-156, 2000 Aug. 22.

PI 13 - *Layers of macromolecules at the champagne / air interface and the stability of champagne bubbles,* N. PÉRON, A. CAGNA, M.VALADE, **C. BLIARD**, V. AUGIER-BÉGHIN, R. DOUILLARD, J. of Surfaces and Colloids, Langmuir (accepté pour publication nov. 2000)

PI 14 - *Enzymatic degradation and deacetylation of native and acetylated starch-based extruded blends,* A. COPINET, **C. BLIARD**, J. P. ONTENIENTE, Y. COUTURIER, Polymer Degradation and Stability (2001), 70, 203-212.

PI 15 - *Identification by site directed mutagenesis and kineti analyses of two catalytically-essential residues in the alpha-L arabinofuranosidase from " Thermobacillus xylanilyticus,* T. DEBECHE, **C. BLIARD**, P. DEBEIRE et M. J. O'DONOHUE, Biochemical J. (soumise jan. 2001.)

PI 16 - *Solid State Photocrosslinked Starch Based Films : A new family of homogeneous modified starches,* J. DELVILLE, C. JOLY, P. DOLE, **C. BLIARD**, Carbohydrate Polymers (soumise jan. 2001).

PI 17 - *Synthesis of Gentiobiose Containing Oligosaccharides from Amygdalin, S.*, NAZABADIOKO, G. MASSIOT and **C. BLIARD**, (en préparation 2001)

PI 18 - *Synthesis of Fluorinated Avermectin Derivatives*, **C. BLIARD**, A. OLESKER and G. LUKACS (en préparation 2001)

PI 19 - *Synthesis of Carboxylic Glycosyl-ester derivatives,* **C. BLIARD**, G. MASSIOT and S. NAZABADIOKO (en préparation 2001)

PI 20 - *Quantitative ^{13}C nmr Spectroscopy for the Determination of Starch Polymers Acetylation kinetics*, B. LAIGNEL, S. BOURG, J.-M. NUZILLARD and **C. BLIARD**, (en préparation 2001)

PI 21 - *Determination of the metabolism of an amylopectin-like reserve endopolysaccharide in Archea hydrothermalis*, S. GRUYER, E. COPINET, **C. BLIARD**, S. BALL and F. DUCHIRON, (soumise à Current Microbiol. 2001)

VII - 2 Publications Nationales

PN 1 - *Biopolymères et Agromatériaux : Ce que nous apprennent les brevets*, M. NIEDDU, P. COLONNA, **C. BLIARD**, M. A. DE LOOZE, *Industries Alimentaires & Agricoles ISSN0019-9311*, (nov-dec 1999) pp 52-60

VII- 3 Publications Ouvrages

PO1 -*Reactivity of the Three Glucosyl -OH Positions -2, -3 and -6 during esterification and saponification of starch by nmr spectroscopy of partially Deutero-acetylated material.*, **C. BLIARD**, O. DURAND, G. MASSIOT, BIOPOLYMER SCIENCE : FOOD AND NON-FOOD APPLICATIONS, Collection " Les colloques ", Paul Colonna, Stéphane Guilbert éditeurs, special issue **1998** éditions de l'INRA, ISBN : 2-7380-0874-7.

VII- 4 Brevets d'Invention

BI 1 - *Procédé pour préparer un nouveau matériau à base d'amidon, ainsi que le matériau ainsi préparé.,* J. DELVILLE, **C. BLIARD**, C. JOLY, P. DOLE. Brevet Français d'Invention N° 0005652 du 03 mai 2000.

-Brevet reconduit en 2001

VII - 5 Communications Orales

CO 1 - *Structure and partial synthesis of natural glycoconjugate analogs,* **C. BLIARD**, Queen's University group lectures, Kingston-Canada, nov. **1989.**

CO 2 -*Synthèse d'analogues d'avermectine Fluorée*, **C. BLIARD**, Conférence invitée à la Société Française de Chimie , SFC section Champagne-Ardenne, Reims le18 octobre **1990.**

CO 3 - *Synthesis of pharmacologically active natural glycoside analogs : the building of saponins from oligosaccharides,* **C. BLIARD**, Saarbrücken Universität Seminar, Sarrebrück - 29 Juin **1992.**

CO 4 - *Risques chimiques et prévention*, **C. BLIARD,** conférence invitée aux Journée UNATEB : Risques biologiques et leur Prévention dans les Laboratoires, CHRU de Reims, 5 juin **1993**

CO 5 - *Synthèse d'oligosaccharides et de saponines mono- et bidesmosides*, S. NAZABADIOKO, **C. BLIARD**, et G. MASSIOT, Journée de communications de la section Champagne-Ardenne, Société Française de Chimie, Reims le 31 mars **1994**.

CO 6 - *Etude Structurale par RMN 1H a très haut champ de Macromolécules d'alpha-glucanes Acétylées*, B. LAIGNEL, **C. BLIARD**, J. M. NUZILLARD, et G. MASSIOT, Journée de communications de la section Champagne-Ardenne, Société Française de Chimie, Reims le 28 mars **1996**.

CO 7 - *Starch based Packaging material : The Chemical Modification.,* **C. BLIARD,** French-Australian Industrial Research Meeting FAIR, ESIEC, Reims, April 28 **1998.**

CO 8 - *Disproportionating enzyme defines a novel step required for normal Starch granule biogenesis*, C. COLLEONI, F. WATTEBLED, D. -DAUVILLÉE, G. MOUILLE, L. LIÉNARD, A. BULÉON, D. GALLANT, B. BOUCHET, M. MORRELL, M. SAMUEL, B. DELRUE, C. D'HULST, **C. BLIARD**, J. M. NUZILLARD and S. BALL, Genetic Tailoring of Novel Starch Polymers Carry le Rouet, France sept. 16-20 **1999**.

CO 9 - *Films d'amidon photoréticulés à l'état solide : une nouvelle famille d'amidons modifiés*, J. DELVILLE, C. JOLY, P. DOLE, **C BLIARD**, Journée de Conférences et Communications célébration du XXXème anniversaire de la SFC section Champagne-Ardenne; 25 Jan 2001.

CO 10 - *La Photoréticulation de Films d'amidon à l'état solide.* J. DELVILLE, C. JOLY, P. DOLE, **C BLIARD,** Congrès SFC Grand Est GE II, 29-30 03 **2001.**

VII - 5 Communications par Affiche

CA 1 - *Synthèse d'oligosaccharides linéaires et ramifiés à partir d'amygdaline. Synthèse de saponines*, **C. BLIARD**, S. NAZABADIOKO et G. MASSIOT, 4th International workshop on oligo and polysaccharides, 14-16 septembre **1994** , AUSSOIS.

CA 2 - *Synthèse de quelques analogues de l'acyclovir de type pyrazinique*, J. M. DAVIS, R. BENHADDOU, R. GRANET, P. KRAUSZ, S. PIEKARSKI et **C. BLIARD**, Communication aux Journées de Chimie Organique. Polytechnique, Palaiseau 12-15 septembre **1995**.

CA 3 - *Kinetics study of glucose Acetylation in Starch Polymers by Quantitative 13C nmr Spectroscopy*, B. LAIGNEL, **C. BLIARD**, S. BOURG, J. M. NUZILLARD and G. MASSIOT, Internationnal Symposium. on Polymer Analysis and characterization. ISPAC10, 10-13 aug. **1997**.

CA 4 - *Acetylated wheat starch membranes : Permeability measurements* , C. JOLY, **C. BLIARD**, E. ESPUCHE, M. ESCOUBÈS, Commun. Internationnal Symposium. on Polymer Analysis and characterization. ISPAC 10, 10-13 aug. **1997**.

CA 5 - *Comparative Reactivity of the Three Glucosyl -OH Positions -2, -3 and -6 during Esterification and Saponification of Starch by nmr Spectroscopy of Partially Deutero-acetylated Material,* **C. BLIARD**, O. DURAND, G. MASSIOT, : International Workshop on Biopolymer Science Agro Montpellier 28-30 sept. **1998**.

CA 6 - *The 88 KD debranching enzyme missing in glycogen accumulating mutants of Clamidomonas Reinardtii displays an isoamylase-type specificity,* D. DAUVILLÉE, V. MESTRE, C. COLLEONI, M. C. SLOMIANY, G. MOUILLE, B. DELRUE, C. D'HULST, **C. BLIARD**, J.-M. NUZILLARD, and S. BALL, Genetic Tailoring of Novel Starch Polymers Carry le Rouet, France, sept. 16-20 **1999**.

CA 7 - *The advantage of " On-line optical rotation monitoring " in revealing intermediate material and polymodal distribution in amylopectins*, **C. BLIARD** and B. MEY ; S.E.C. of

Starch Macromolecules, Genetic Tailoring of Novel Starch Polymers Carry le Rouet , France, sept. 16-20 **1999**.

CA 8 -*Characterization of an Endopolysaccharide Metabolic Pathway in the Hyperthermophilic Archeon* " *Thermococcus Hydrothermalis* ", S. GRUYER, J.S. THAL, **C. BLIARD**, F. DUCHIRON, S. BALL, The 3rd International Congress on Extremophiles. Technical University of Hamburg-Harburg Germany, sept. 3-7 **2000**.

CA 9 - *High Field NMR Spectroscopy Analysis of Beta-Limit Dextrins from Starch-like polysaccharides. An Approach to the Understanding of Amylopectine Crystalinity.* C. Bliard, Royal society of of chemistry, Starch 2000 Cambridge, Angleterre 27-29 03 **2000**.

CA 10 - *Surface Properties and Foaming Behaviour of Champagne Wines*; N. PÉRON, A. CAGNA , M. VALADE, **C. BLIARD**, DOUILLARD R, Euroconference on Foams, Emultions and Applications, Deft University of thechnology, Holland ; 4-8 june **2000**.

CA 11 - *Synthèse d'arabino- et de xylo-disaccharides activés, à l'aide d'une Enzyme : l'Alpha-L-arabinofuranosidase thermostable de " Thermobacilus xylanilyticus* ", T. DEBECHE, **C. BLIARD**, P. DEBEIRE et M J. O'DONOHUE, Journée de Conférences et Communications célébration du XXXème anniversaire de la SFC section Champagne-Ardenne; 25 Jan **2001.**

CA 12 - *Films d'amidon photoréticulés à l'état solide : une nouvelle famille d'amidons modifiés*., J. DELVILLE, C. JOLY, P. DOLE, **C BLIARD**, Journée de Conférences et Communications célébration du XXXème anniversaire de la SFC section Champagne-Ardenne; 25 Jan **2001**.