

ASPECT TOXICOLOGIQUE ET PHYSICOCHIMIQUE DU 1,5-DIPENTANAL

Bouزيد Mohammed

Bezzazi Boudjemaa

Unité de recherche: Matériels, Processus et Environnement,
Université M'Hamed Bougara Boumerdes, Algérie

Djadi Amina

Ait Amar Hamid

Laboratoire des Sciences de Génie des Procédés Industriels, Faculté de
Génie des Mécaniques et de Génie des Procédés, Université des Sciences et
de la Technologie Houari Boumediene, Algérie

Ghouini Ahmed

Laboratoire de physiologie, Faculté de Médecine, université de Blida 1

Abstract

The 1,5-dipentanal is an important organic molecule: pedagogically, the molecule provides a range of interesting chemical reactions (Aldolisation, Michael, glycolysis, Cannizzaro, Mannich ...). It has the same reaction mechanisms for teaching the fundamentals of ecotoxicology in particular and chemistry in the environment in general. The extent of these applications between the fine disciplines (medical sciences, pharmacological chemistry, enzyme technology, technology of biological membranes and tissues, cytochemistry, histochemistry, immunochemistry, microscopy, X-ray ...) generates a rich multidisciplinary education first. Glutaraldehyde reacts with proteins, sugars and lipids feature free groups (-NH₂). The amine group (NH₂) reacts with the nucleophilic carbonyl electrophilic aldehyde (- CHO). The consequences of this mechanism in vivo are at the heart important pathophysiological (diabetes, renal failure, ...). Moreover, the miscibility with water (100%), high reactivity in physiological, highly evaporable terms (air contamination), chemical intermediate in industry and a must for all disinfection and sterilization of equipment. A good compromise between advantage and disadvantage impose a regulated management of the molecule as effluent or residue. It can not be rejected in sanitation, or natural mitan. The development of processes requested by the practical interest of the molecule and its management as harmful liquid waste is required.

Keywords: Glutataldehyde, Toxicology, Pathophysiology, Mechanism in vivo

Résumé

Le 1,5-dipentanal est une molécule organique importante: sur le plan pédagogique, la molécule offre un éventail de réactions chimiques intéressantes (Aldolisation, Michael, glycolyse, Cannizzaro, Mannich...). Elle présente de même des mécanismes réactionnels pour l'enseignement des fondements de l'éco-toxicologie en particulier et de la chimie dans l'environnement en général. L'étendu de ces applications entre les disciplines fines (sciences médicales, pharmaco chimie, technologie de l'enzyme, technologie des membranes biologiques et des tissus, cytochimie, histochimie, immunochimie, microscopie, RX...) engendre un abord multidisciplinaire riche d'enseignement. Le glutaraldéhyde réagit avec les protéines, les sucres, et les lipides dotés de groupements (-NH₂) libre. Le groupe amine (-NH₂) nucléophile réagit avec le carbonyle de la fonction aldéhyde électrophile (- CHO). Les conséquences de ce mécanisme in vivo sont au cœur d'enjeux physiopathologiques importants (le diabète, les insuffisances rénales, ...). Par ailleurs, la miscibilité à l'eau (100 %), réactivité élevée dans les conditions physiologiques, hautement évaporables (contamination de l'air), intermédiaire réactionnel en industrie et un impératif pour toute désinfection et stérilisation de matériel. Le bon compromis entre avantage et inconvénient imposent une gestion réglementée de la molécule comme effluent ou résidu. Elle ne peut être rejetée dans l'assainissement, ni dans le mitan naturel. La mise au point de procédés demandée par l'intérêt pratique de la molécule et sa gestion comme déchet liquide nocif est nécessaire.

Mots clés: Glutaraldéhyde, Toxicologie, Physiopathologie, Mécanisme in vivo

II. Introduction

Le 1,5-dipentanal est un biocide efficace (Dumon et *al.*, 1977). Le rendement remarquable du désinfectant est illustré par des études bactériologiques et par la surveillance clinique des malades. L'innocuité de l'agent antiseptique pour le matériel est confirmé (Rahal et *al.*, 2009 ; Rey et *al.*, 1987). A juste titre, la molécule est utilisée en solution aqueuse en grande quantité dans les hôpitaux pour la désinfection à froid du matériel thermosensible (Jetté et *al.*, 1995 ; Bouzid et *al.*, 2013). La décontamination appropriée oblige, afin d'éviter les contaminations croisées. Il est rapporté que des réactions infectieuses interviennent comme complications de la bronchoscopie, de la fibroscopie, et instrumentations (Beyt et *al.*, 1977).

En mélange avec les détergents, le GL est adjoint comme décontaminant des surfaces dans l'industrie agroalimentaire (Figueiro et *al.*, 2004) et comme élément de formulation dans pâte à papier (Kari., 1993), le traitement du cuir (Geier et *al.*, 2012), la cosmétique (HC Red No. 1., 2011), l'industrie pharmaceutique (Jayakrishnan et *al.*, 1996), les sciences médicales (Genta et *al.*, 1998) et la chimie organique comme intermédiaire réactionnel (Holbova et *al.*, 1976 ; Abdel-Magid et *al.*, 1996 ; Arend et *al.*, 1998).

La propriété biocide à large spectre (efficacité sur de nombreux germes y compris les formes végétatives de bacille de Koch, du virus de l'hépatite B et du VIH) (Thomas et *al.*, 1974) est due à son potentiel de réticulation avec les protéines (Sutherland et *al.*, 2008), les sucres (Ostrowska-Czubenko et *al.*, 2011) et les lipides contenant les amines primaires libre (Russel et *al.*, 1976 ; Roozmond 1969; Gigg et *al.*, 1969 ; Wood et *al.*, 1983, Richards et *al.*, 1968).

La réaction entre le groupe amine (-NH₂) et la fonction carbonyle (-CO) de l'aldéhyde permet la fixation des tissus et des cellules biologiques (Hopwood., 1972 ; Hayat., 1986). Cette propriété élargit le champ d'application du glutaraldéhyde, notamment en microscopie (Sabatini et *al.*, 1963 ; Hayat., 1986 ; Kiernan., 2000) et étude structurale RX (Hayat., 1986). Histochimie (Sabatini et *al.*, 1963 ; Hopwood., 1967), cytochimie, immunochimie (Hopwood., 1972), biomédicale (Gorman., et *al.*, 1980 ; Nimni et *al.*, 1987), biotechnologie (Quiocho et *al.*, 1962 ; Monsan., 1978).

Le GL à fait l'objet de recherches scientifiques soutenues depuis des décennies. La pénétration des tissus biologiques, des cellules et la réactivité avec l'ADN, l'ARN, et de nombreuses protéines (Hopwood., 1972), font de ce produit un réactif appréciable. La miscibilité à l'eau, la tension de vapeur élevée de GL (Bonnard et *al.*, 2010), et sa réactivité in vivo font de lui un polluant redoutable.

Comprendre le comportement de cette molécule en solution aqueuse, permet une interprétation efficace, fondamentale et appliquée de la fixation des tissus biologiques et de la désinfection. Elle permet aussi de prévoir l'impact de GL sur les écosystèmes. Des études soulignent, le coté dommageable de la molécule sur la santé humaine avec argumentation tout à la fois épidémiologique, sémiologique, et toxicologique (Sano et *al.*, 2005 ; Leug et *al.*, 2001 ; Jetté et *al.*, 1995 ; Sigwalt et *al.*, 2009).

L'étendu des applications en chimie, biochimie, biologie moléculaire et cellulaire, à la base de toute compréhension des mécanismes physiopathologiques aussi complexe que la neuro-dégénérescence, le diabète, les insuffisances rénales..., repose sur la chimie des agrégats en partie notamment, la réaction amine (-NH₂) et la fonction carbonyle (-CO). L'exemple à citer étant la réaction de glycolyse in vivo et les composés qui

en découlent : AGE (Advanced glycation end-products) (John *et al.*, 1993 ; Sartori *et al.*, 2010). Des travaux scientifiques incriminent à juste titre les composés carbonylés : le glutaraldéhyde, le formaldéhyde dans le sillage de la réaction de Maillard *in vivo* au même titre que le glycéraldéhyde composant avéré des AGE (J.A. Gerrard *et al.*, 2002).

La réaction de glycation est un réseau complexe de réactions non enzymatique de protéines. Les molécules les plus en vue s'avèrent les di-carbonylés. Le méthyle glyoxal et le glutaraldéhyde ont été jugés des plus efficaces des agents de réticulation. Cette capacité réactionnelle est liée à la formation de composés hétérocycliques azotés stables (Sartori *et al.*, 2010). Cette catégorie de produits fortement réactifs est dénoncée et classée par le : « World Health Organization international Agency for Research on Cancer (IARC 2010). Ils sont impliqués dans les complications cérébrales, coronariennes (Klein.,1995 ; Stratton *et al.*, 2000), la néphropathie (Cohen *et al.*, 1981) ; événement thromboembolique (Tarsio *et al.*, 1987 ; Lutjens *et al.*, 1985 ; Sampietro *et al.*, 1986 ; Cohen *et al.*, 1989 ; Ceriello *et al.*, 1990) ; l'athérosclérose (Mamo *et al.*, 1990 ; Duell *et al.*, 1991 ; Kortlandt *et al.*, 1992 ; Nishimoto *et al.*, 1989), la neuropathie (Vlassara *et al.*, 1981 ; Vlassara *et al.*, 1983) et la cataracte (Liang *et al.*, 1986 ; Stevens *et al.*, 1978).

L'objectif de cet article est de présenter le comportement du 1,5-dipentanal en solution aqueuse et le mécanisme d'action attendu avec les protéines, les sucres et les lipides comportant le groupement amine (-NH₂) libre. L'approche demeure fondamentale, elle s'inscrit dans les grandes lignes classiques de la chimie organique (réaction de condensation aldolique, l'addition de Michael, la réaction de Maillard, comizzaro, Mannich...). Elle souligne les conditions réactionnelles comme deux compartiments classiques : le milieu acide / neutre, et le milieu basique qui esquissent le comportement chimiques du GL en solution.

III. Glutaraldehyde en solution aqueuse

III.1. Glutaraldehyde en milieu acide

De part la littérature, le 1,5-dipentanal en solution aqueuse existe sous la forme hydratée et polymérique (Korn *et al.*, 1972). L'existence des espèces réactives monomères, dépend des conditions physicochimiques : température, pH, concentration et nature du solvant (Migneault *et al.*, 2004). En milieu acide et neutre, L'eau hydrate la fonction carbonyles (-CO) de l'aldéhyde. Cette réaction est catalysée par le cation H⁺ comme par l'anion OH⁻ en solution. Dans les deux cas, la réaction aboutie à un système en équilibre entre l'aldéhyde et ces diols géminés (Schéma 1) (Vollhardt *et al.*, 1999).

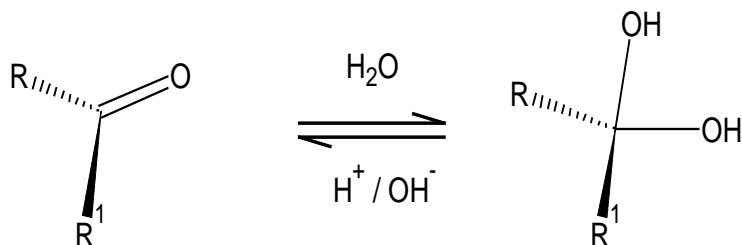


Schéma 1: Hydratation de la fonction carbonyle de l'aldéhyde (Vollhardt et *al.*, 1999)

Hardy et *al.*, 1969 sur la base d'étude RMN proton et UV-Visible considèrent que les formes insaturées autres que les dialdéhydes ne représentent qu'un constituant mineur. Ils attribuent les spectres obtenus à la présence d'hydrates linéaires et cycliques en équilibre (Schéma 2). Ainsi ces auteurs confirment que l'hydrolyse rapide du GL conduit à l'équilibre entre le monomère et ces hydrates (Hardy et *al.*, 1969).

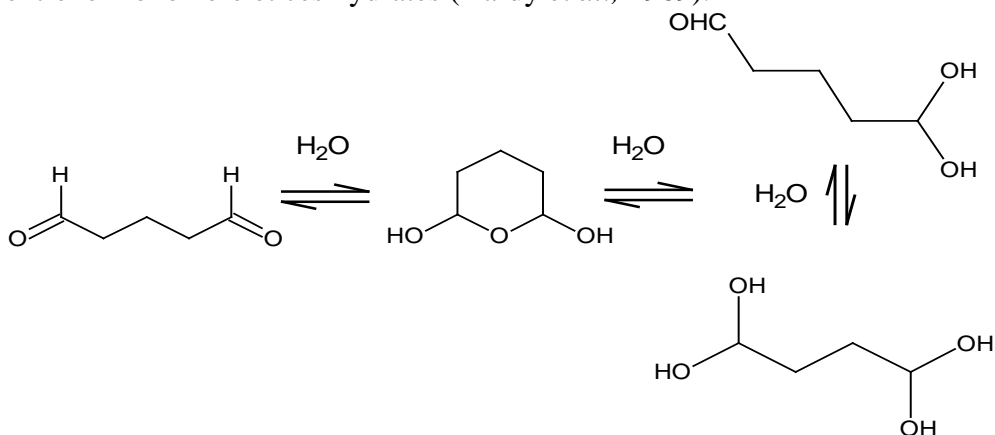


Schéma 2: Glutaraldéhyde en équilibre avec les hydrates linéaires et cycliques en solution aqueuse (Hardy et *al.*, 1969)

Par ailleurs, Richards et *al.*, 1968 analysent les solutions aqueuses commercialisées de GL par méthodes spectrales. Ils concluent à la présence de formes essentiellement polymériques provenant de la condensation par addition de Michael des molécules de dialdéhyde, ces dérivés pouvant exister sous forme linéaire et / ou cyclique. Ils s'avèrent stables en milieu acidulé (Schéma 3).

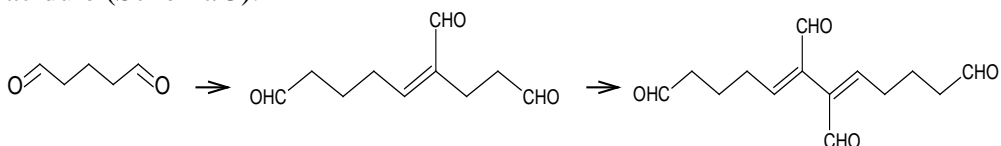


Schéma 3: Réaction de Michael molécules de 1,5 dipentanal (Richards et *al.*, 1968)

Whipple et *al.*, 1974 précise que l'équilibre est gouverné par les conditions thermodynamiques de la solution. L'étude par RMN carbone 13

affirme que le mélange équimolaire cis et trans de l'hémiacétal cyclique est en équilibre avec l'oligomère (Schéma 4).

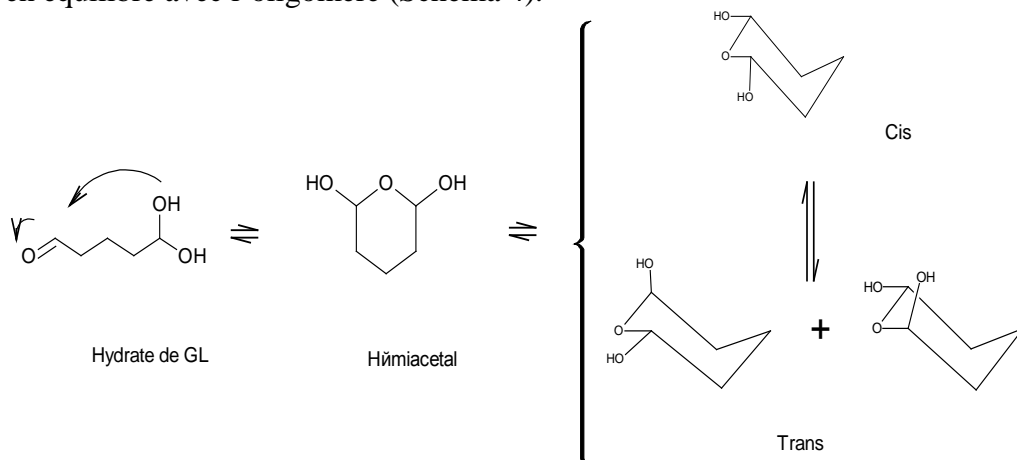


Schéma 4: Le 1,5-dipentanal en équilibre avec les hydrates en milieu acide et/ou neutre (Whipple et al., 1974)

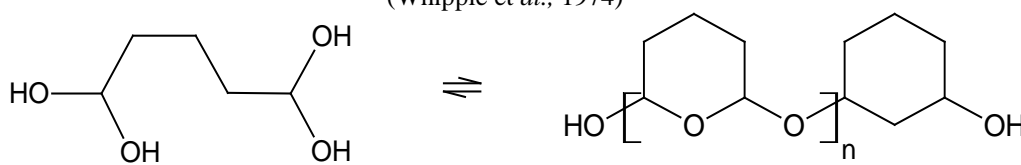


Schéma 5: Hémiacétal polymérique (Whipple et al., 1974)

L'étude menée détermine la composition de la mixture est le mouvement de la concentration des hydrates en fonction de la température (Figure 1).

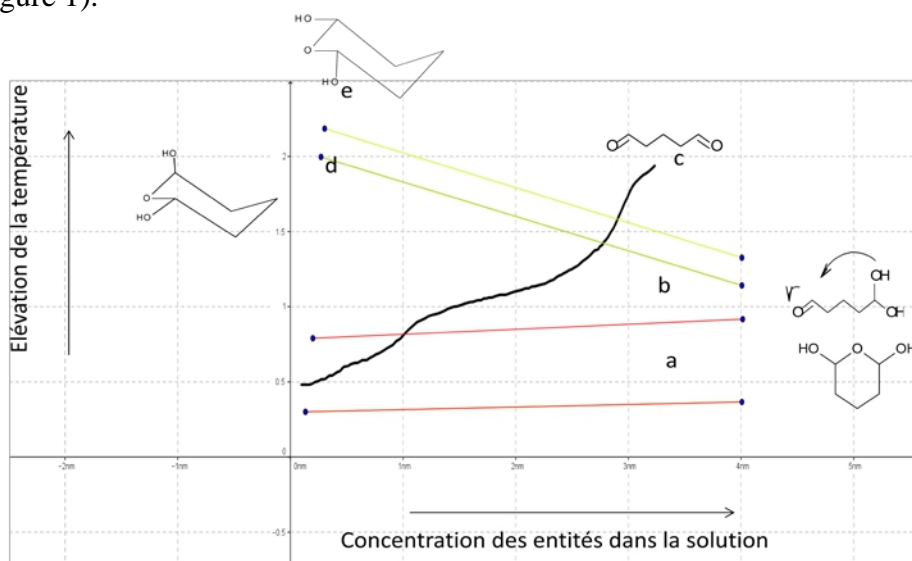


Figure 1: Composition et pourcentage de groupes aldéhyde libres dans une solution aqueuse à 25% du glutaraldehyde (Whipple et al., 1974)

III.2. Glutaraldehyde en milieu basique

En milieu basique les aldéhydes se condensent. C'est la réaction d'aldolisation, un processus important en synthèse organique. Il permet la création de la liaison carbone-carbone. Dans le cas des aldéhydes, le résultat d'une telle transformation est l'obtention d'un composé carbonyle - hydroxylé. L'élimination d'une molécule d'eau donne l'aldéhyde α, β insaturé (Vollhardt et *al.*, 1999).

Le mécanisme se présente en deux étapes : Formation de l'énolate par action de la base sur l'aldéhyde (Schéma 6).

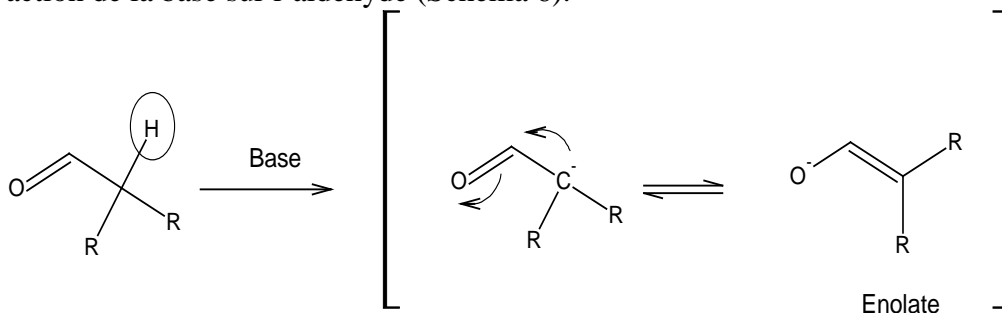


Schéma 6: Etape 1, formation d'énolate en milieu basique (Vollhardt et *al.*, 1999)

La double liaison de l'énolate, comme nucléophile, attaque la fonction carbonyle de l'aldéhyde (Schéma 7). La réaction évolue vers le système conjugué en α, β de la fonction (-CO) (Vollhardt et *al.*, 1999).

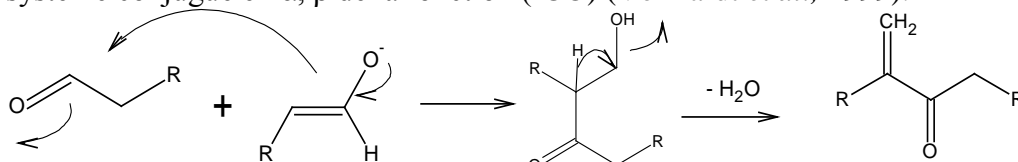


Schéma 7: Etape 2, formation de l'aldéhyde α, β insaturé en milieu basique (Vollhardt et *al.*, 1999)

Self aldolisation des mono aldéhydes linéaires

Le procédé s'effectue selon le modèle de Tharun et *al.*, 2010 :

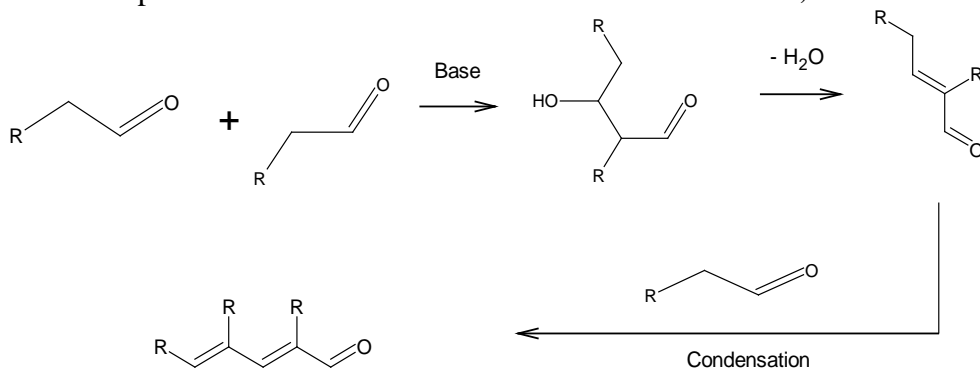


Schéma 8: Self aldolisation des mono aldéhydes linéaires (Tharun et *al.*, 2010)

La réaction est sélective. Elle donne le α, β insaturé aldéhyde avec un bon rendement et d'autres produits de condensation comme le β hydroxy-aldéhyde (Chang *et al.*, 2000 ; Molnar *et al.*, 2006 ; Shimizu *et al.*, 2002)

Self aldolisation des dialdéhyde linéaires

Le 1,5-dipentanal se comporte en solution aqueuse comme un mono aldéhyde, le procédé se fait en deux étapes : aldolisation suivi de la condensation suivant le schéma de (Kildeeva *et al.*, 2009).

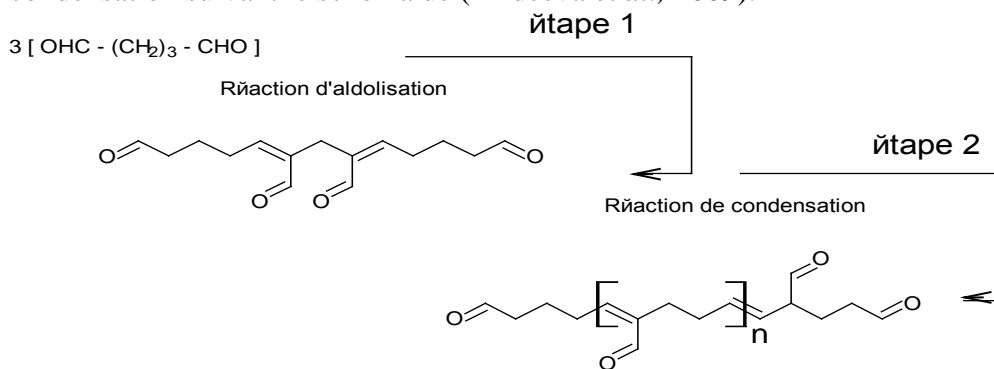


Schéma 9: Self aldolisation des dialdéhydes linéaires (Gorman *et al.*, 1980)

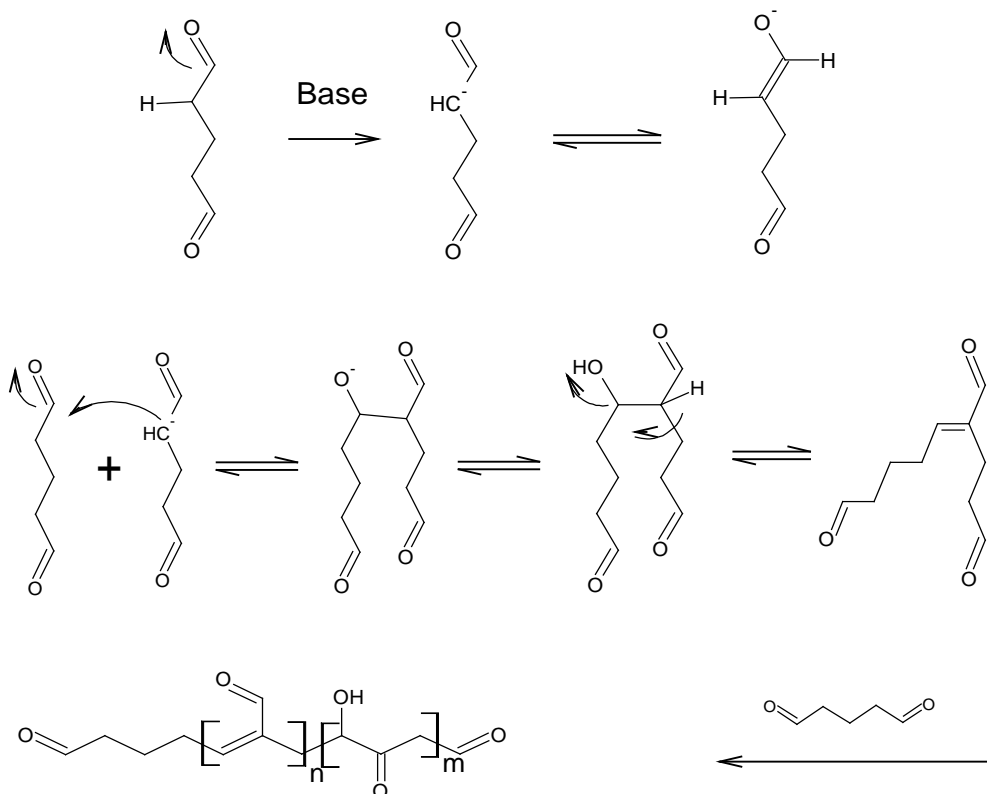


Schéma 10: Mécanisme de la réaction de condensation aldolique en milieu basique (Kildeeva *et al.*, 2009)

Le comportement de GL en solution attire l'attention à plusieurs titres. Aso et *al.*, 1962 proposent le polymère issu de l'hémiacétal pour être un tétra ou pentamère soluble dans l'eau. Le polymère contenant au moins une fonction aldéhyde par molécule. La réaction de polymérisation se fait à température ambiante en solution aqueuse. Le mécanisme est une suite d'étapes inter et intramoléculaire, ce qui induit la formation de cycles (Schéma 11).

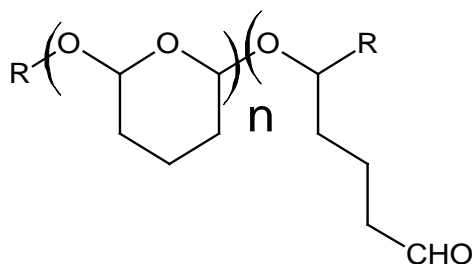


Schéma 11: Polymère issue de l'hémiacétal (Aso et *al.*, 1962)

L'étude par résonance magnétique nucléaire RMN proton, révèle la présence d'oligomères linéaires et cycliques (dimère et trimère) et la présence du composé insaturés en α et β de la fonction (-CHO) en quantité relativement importante (Richards et *al.*, 1968). L'auteur propose le (schéma12).

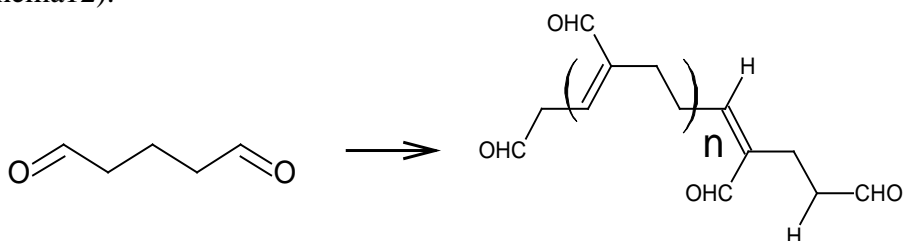


Schéma 12: Aldolisation intramoléculaire (Richards et *al.*, 1968)

Pour $n = 1$, et selon les conditions opératoires, le glutaraldehyde évolue vers le composé α, β insaturé et peut évoluer de même, par fermeture intramoléculaire et perte d'une molécule d'eau vers le composé cyclique (schéma13).

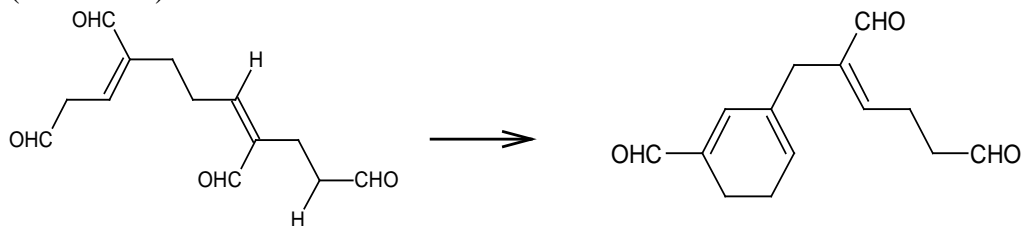


Schéma 13 : Fermeture intramoléculaire du PGL

En milieu basique, la condensation aldolique prend le pat. La

démarche reprise par Margel et *al.*, 1980 en fonction du pH entre 7 et 13,5 authentifie la formation de poly-glutaraldehyde (PGL). En fonction des conditions physicochimiques, le groupement formyle évolue vers le groupement hydroxyle et des groupements carboxylique (Schéma 14).

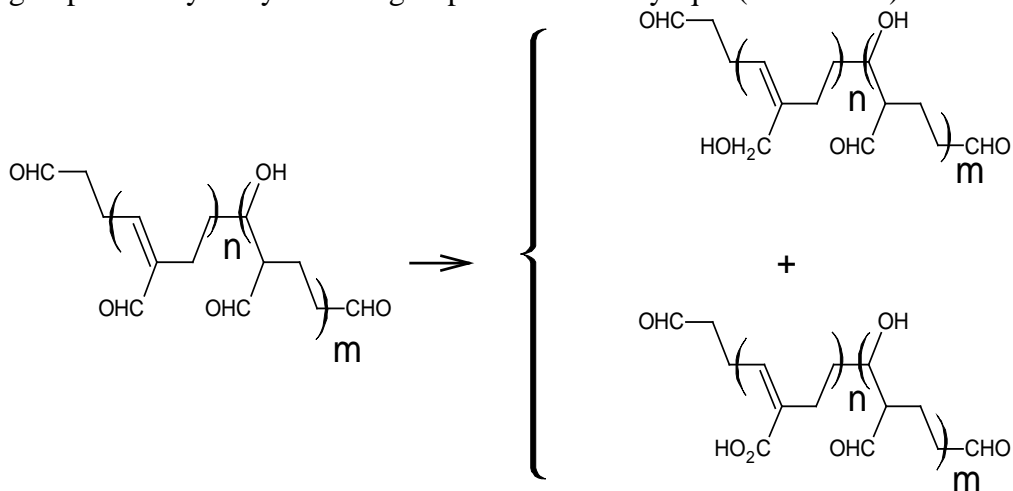


Schéma 14: Formation des PGL (Margel et *al.*, 1980)

Tashima et *al.*, 1991 soutirent deux dimères cycliques insaturés en équilibre à pH 8,5. L'analyse par RMN à deux dimensions penche vers la présence d'insaturations en position α de la fonction formyle et l'existence de groupement (-OH) (Schéma 15).

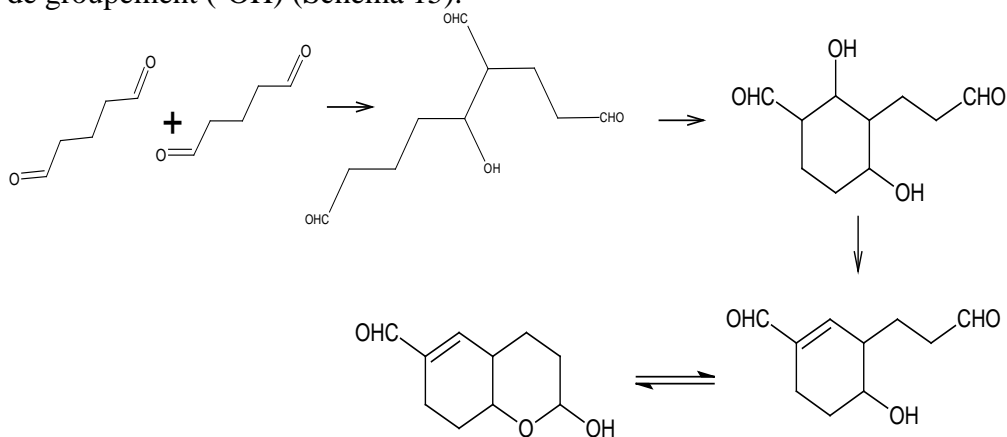


Schéma 15: Dimères cycliques insaturés du GL (Tashima et *al.*, 1991)

Le mécanisme de la formation du dimère à partir de GL peut être expliqué par la condensation aldolique de deux molécules de GL. Le dimère ainsi formé peut subir une condensation aldolique intramoléculaire, suivi d'une déshydratation pour donner l'acétal cyclique (Walt et *al.*, 1994).

IV. Réactivité du glutaraldéhyde avec les amines

En présence d'amine le glutaraldéhyde forme des hémiaminals analogues azotés des hémiacetals. Les hémiaminals provenant des amines primaires perdent facilement de l'eau, ce qui engendre une liaison Carbone – Azote (Imine) ou (base de schiff) (schema16) (Vollhardt et al., 1999).

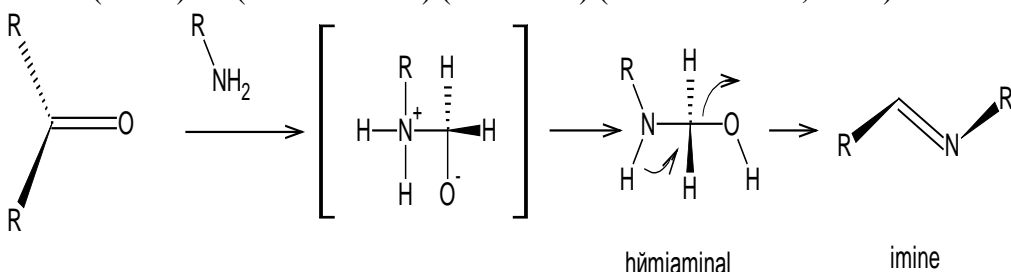


Schéma16: Mécanisme réaction des amines avec les aldéhydes (Vollhardt et al., 1999)

Afin d'élucider le mécanisme réactionnel de fixation des amines, (Monsan et al., 1975) choisit le modèle de crotonaldéhyde. Pour des quantités stœchiométriques de réactifs, la réaction peut donner deux types de produits (Schéma 17) :

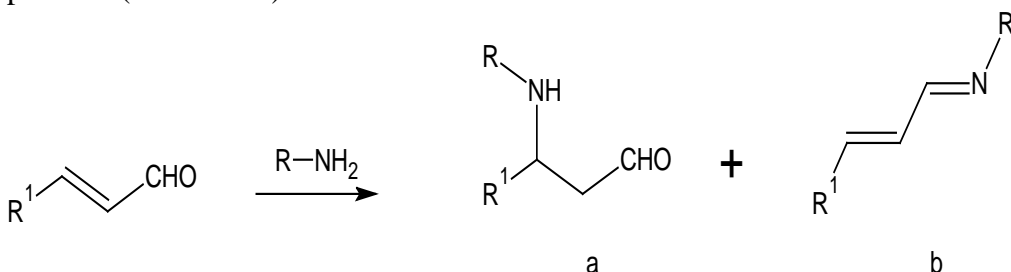


Schéma 17: Crotonaldéhyde en présence d'amine (Monsan et al., 1975)

Le produit (a) résulte de l'addition nucléophile de l'amine sur la double liaison éthylénique. Ce mécanisme correspond à celui proposé par (Richards et al., 1968) pour la réaction de glutaraldéhyde avec les protéines. Dans le composé (b), on a formation d'une imine (base de schiff) par condensation de l'amine sur la fonction aldéhyde. En présence d'un excès d'amine aliphatique, le crotonaldéhyde conduit au composé (c).

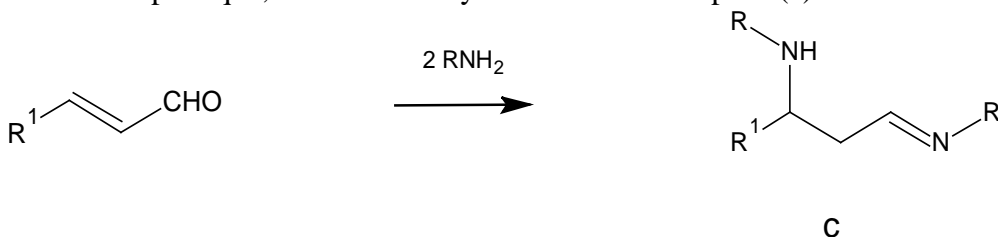


Schéma 18: Crotonaldéhyde en présence d'amine en excès (Monsan et al., 1975)

Plusieurs auteurs avancent que les composés préparés à base de glutaraldéhyde et les amines sont stabilisés par résonance des liaisons. Monsan *et al.*, 1975 précisent que la fonction aldéhyde terminale du PGL, du fait de sa position non conjuguée ne peut conduire à des produits stables. La nature chimique de la réaction de GL avec les protéines suit en général le schéma de crotonaldéhyde avec les amines. La réaction de polymérisation et la condensation des protéines se développent en parallèle. Les produits dérivés de la molécule de GL réagissent avec les amines simultanément (Schéma 19).

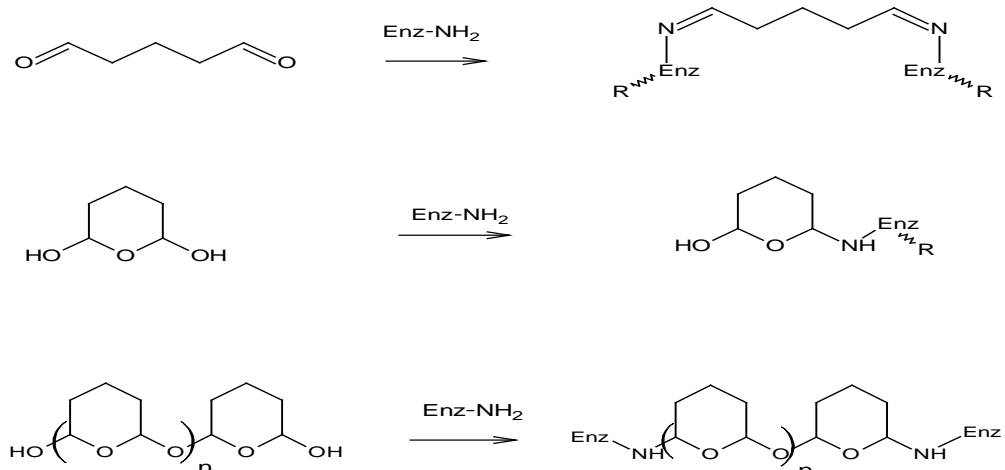


Schéma 19: Réaction de GA avec les protéines en milieu acide et neutre (Walt *et al.*, 1994)

Monsan *et al.*, 1975 rapportent que l'influence du pH sur la réactivité de GL en solution avec les amines est importante. IL en est de même pour la stabilité du produit obtenu. Ainsi lorsque la réaction à lieu à pH 3,5 le complexe acide aminé - GL s'hydrolyse. Il semble donc que les formes mises en évidence dans ces solutions ne puissent permettre des liaisons stables avec les acides aminés. Les composés qui apparaissent en augmentant le pH sont des complexes stables. L'analyse par spectroscopie de masse et chromatographie identifie les produits de condensation aldolique le PGL (Polyglutaraldehyde) (Schéma 20).

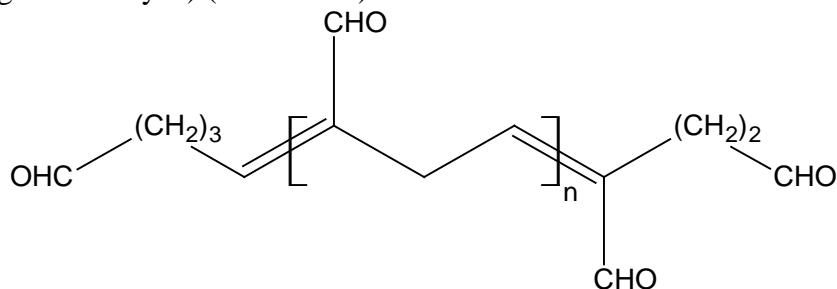


Schéma 20: Polyglutaraldehyde PGL (Monsan *et al.*, 1975)

Richards et *al.*, 1968 émettent l'hypothèse que les polymères insaturés réagissent avec les amines pour donner des produits d'additions stables suivant une réaction de Michael (addition sur la liaison éthylénique). Contrairement à cette hypothèse, le crotonaldéhyde, la fonction aldéhyde se montre plus réactive avec les amines. Par analogie le PGL se présente avec deux centres réactifs : la double liaison éthylénique et la fonction aldéhyde (Schéma 21).

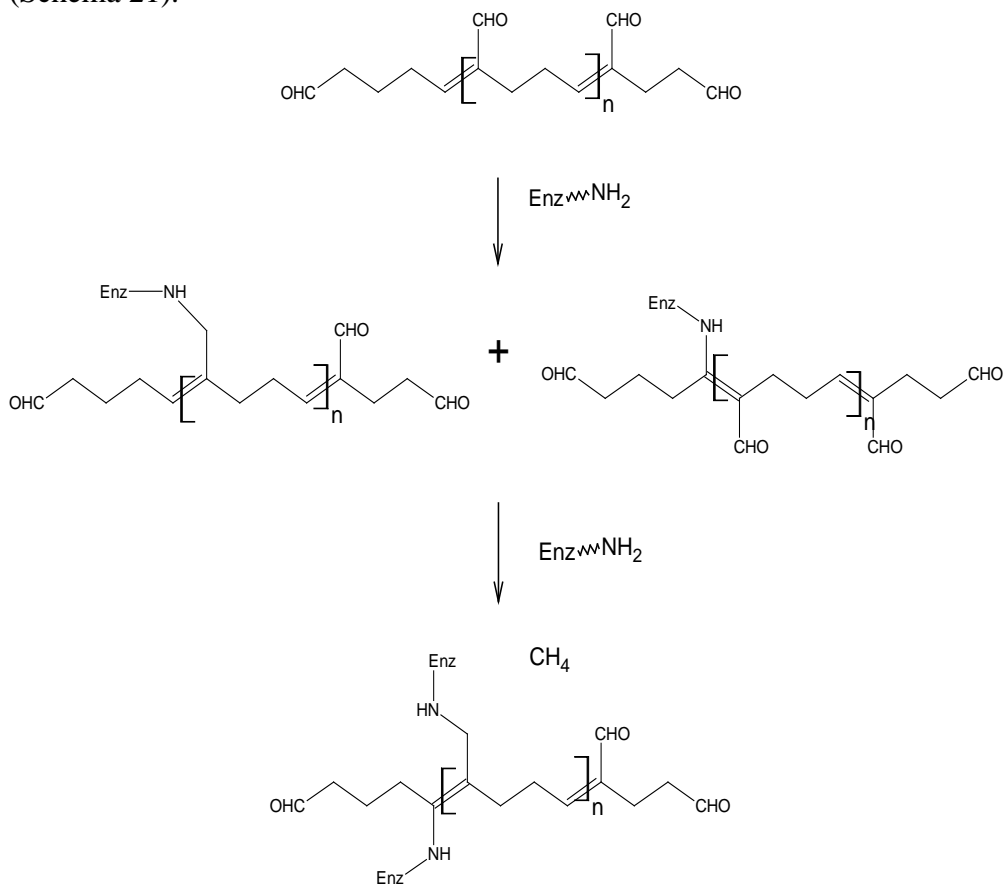


Schéma 21: Réaction de GA polymère avec les protéines en milieu basique (Richards et *al.*, 1968)

Les réactions de Cannizzaro produisent également avec les groupes aldéhydes libres deux groupes d'hydroxyles primaires et des groupes d'acide carboxyliques dans ces polymères (Schéma 22). Une telle réaction se déroule d'autant plus facilement que le pH est élevé.

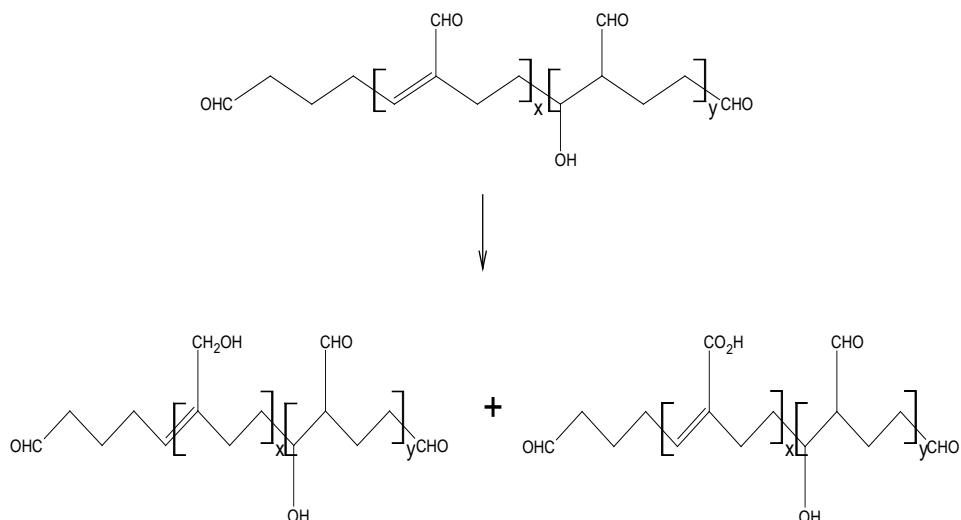


Schéma 22: Structure de polymère produit GA de condensation incomplète subissent une réaction de Cannizzaro

Une étude récente (Tashima *et al.*, 1991) identifie les principaux composants d'activation alcaline (Schéma 23). Tashima *et al.*, 1991 ont conclu que la réaction de solutions de glutaraldéhyde alcaline (mélange de dimères a₁ et b₁) avec des protéines peut impliquer une addition de Michael sur les doubles liaisons pour donner le (d₁) et (c₁), comme le montre le schéma 22 adapté de Hardy *et al.*, 1969. Si ces réactions se produisent, et si un excès d'amine est ajouté, le composé (e₁) peut être formé.

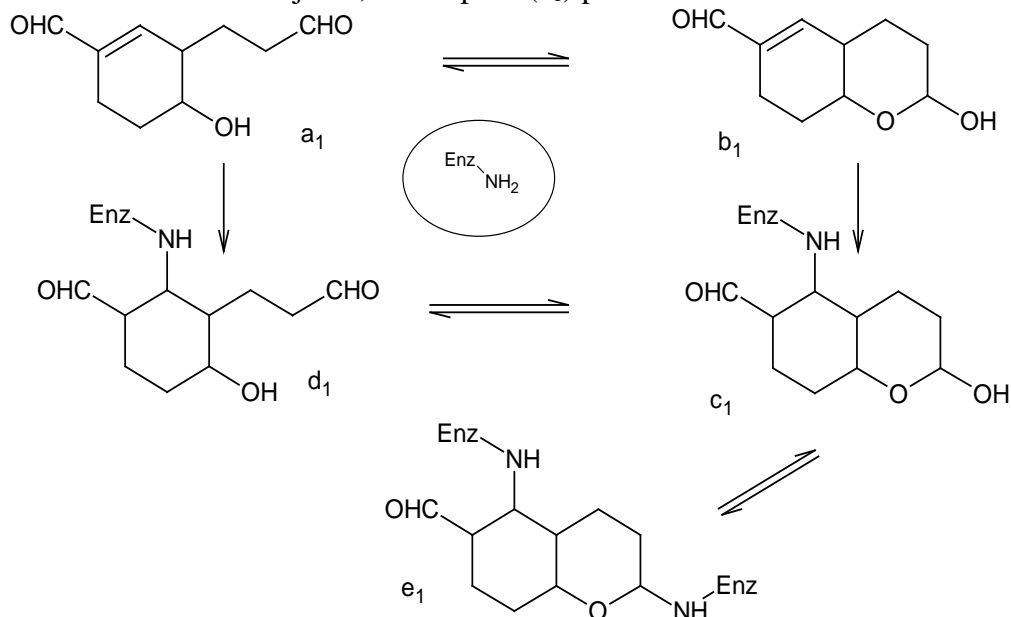


Schéma 23: Réaction de GA cyclique dimère avec les protéines dans les conditions basiques (Tashima *et al.*, 1991)

Les réactions de greffages se déroulent au même temps que les réactions de condensation et de cyclisation (Schéma 24) en milieu basique comme en milieu acide.

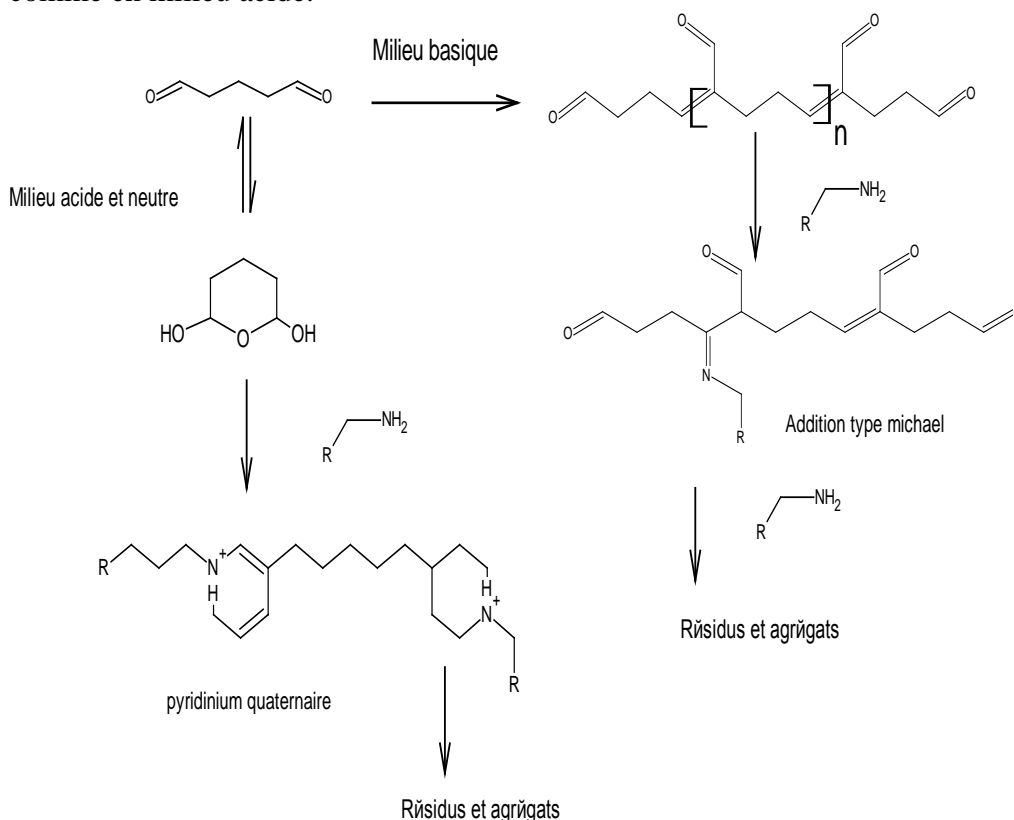


Schéma 24: Greffage des protéines avec le GL

La réticulation avec les protéines, peut conduire à des composés linéaires et cycliques poly substitués, type pyridinium quaternaire (Hardy et *al.*, 1978) (Schéma 24). L'évidence dans ce cas dicte que le produit α, β insaturé polymère greffé par le résidu lysine sous forme de base de schiff, peut évoluer après déshydratation, et cyclisation intramoléculaire en composé type pyridinium.

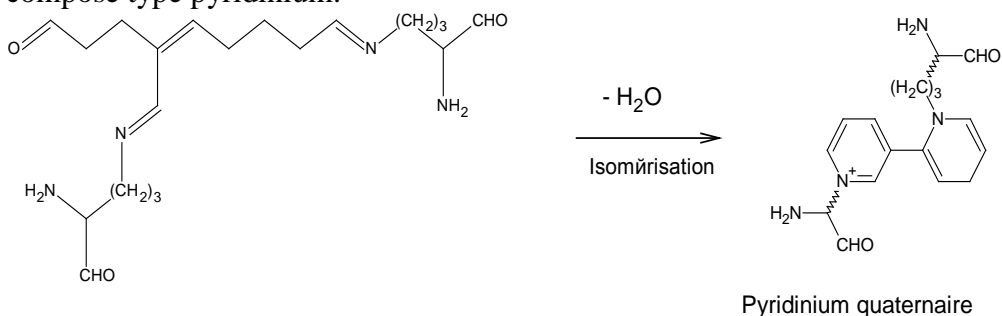


Schéma 25 : Réticulation protéine – GL donnant un pyridinium (Hardy et *al.*, 1978)

Dans le cas de dérivés carbonylés à fonction simple, l'addition de (-NH₂) sur le carbonyle se traduit par une élimination d'une molécule d'eau suivant le schéma 26.

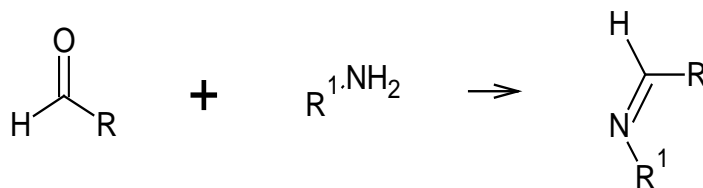


Schéma 26: Addition d'amine sur un aldéhyde mono fonctionnel

Dans le cas de l'aldéhyde α éthylénique dicarboxylé, le résultat est parfois le même. Toutefois les dérivés azotés se cyclisent facilement. L'exemple présenté par Brinkmann et *al.*, 1998 est riche d'enseignement (schéma 28).

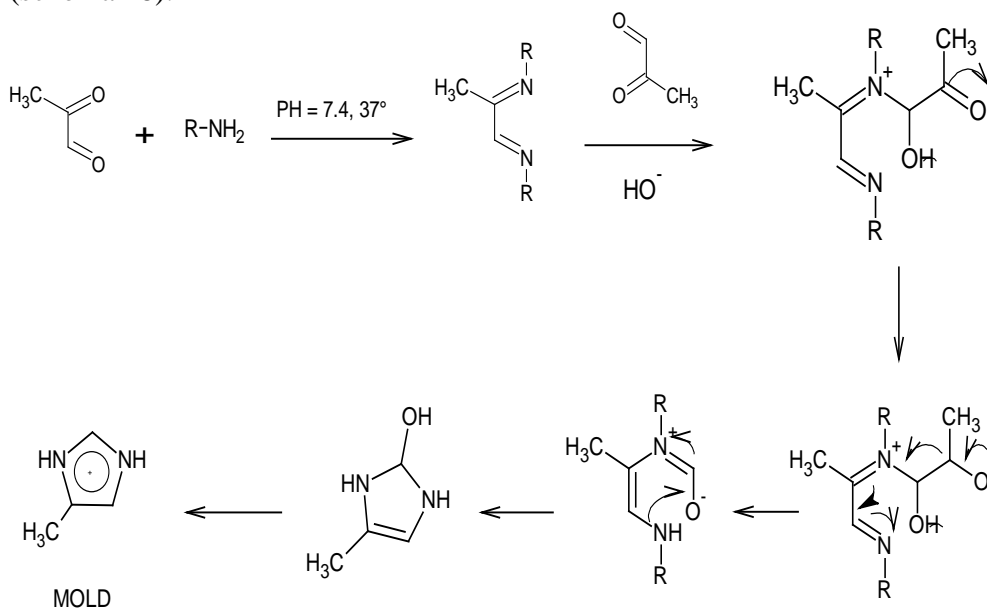


Schéma 27: Addition d'amine sur aldéhyde bi fonctionnel

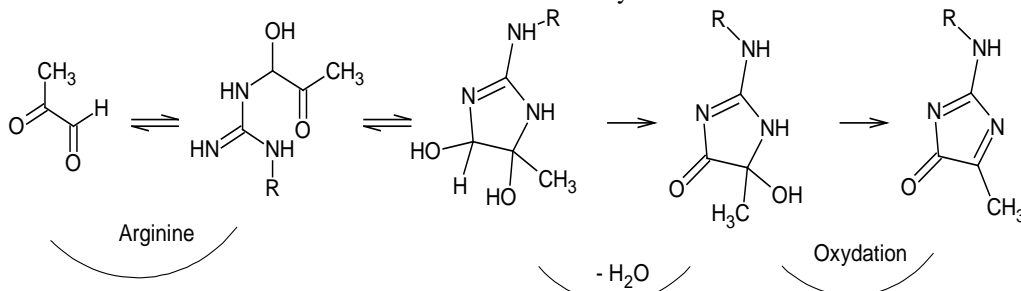


Schéma 28: Exemple de l'arginine méthyl-glyoxal

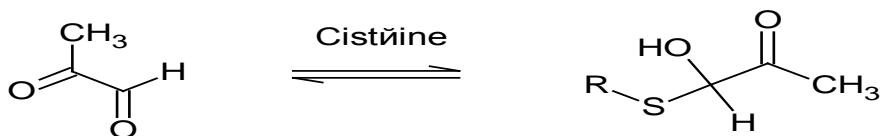


Schéma 29 : Exemple de la cystéine méthyl-glyoxal

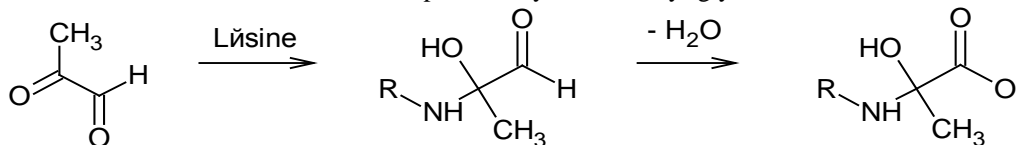


Schéma 30 : Exemple de lysine méthyl-glyoxal

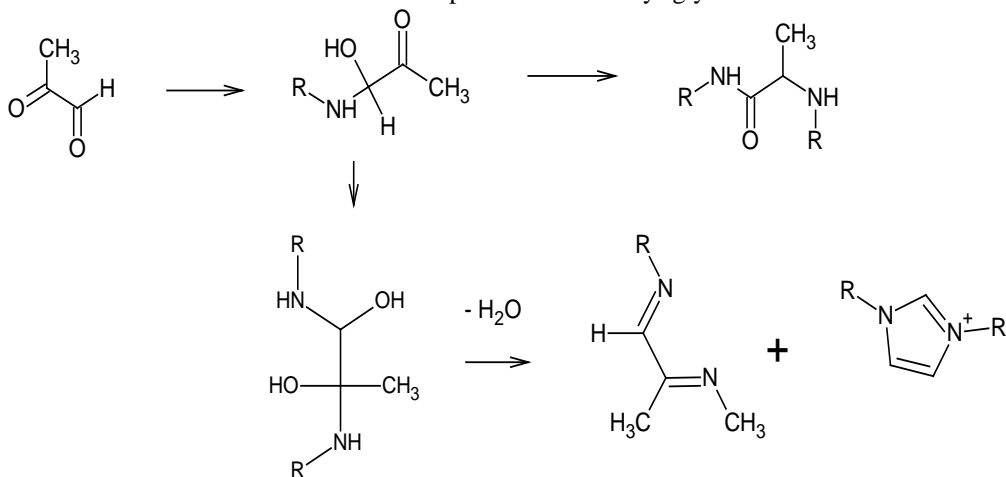


Schéma 31 : Exemple de lysine méthyl-glyoxal

Le travail de Simionescu et *al.*, 1993 montre la parenté des composés issus de la molécule de GL avec ceux présentés par Brinkmann et *al.*, 1998 avec le méthyl-glyoxal (schéma 29) (Schéma 31). La réaction entre le GL avec la protéine par glycation est envisagée (Hermanson., 1996) (Schéma 29). Le mécanisme est fort probablement similaire à celui de glycéraldéhyde.

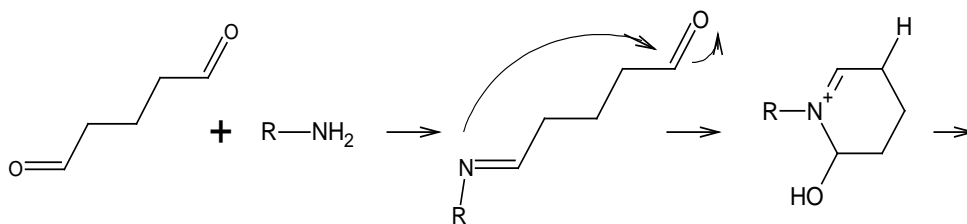


Schéma 32: Mécanisme de formation de pyridinium (Simionescu et al., 1993)

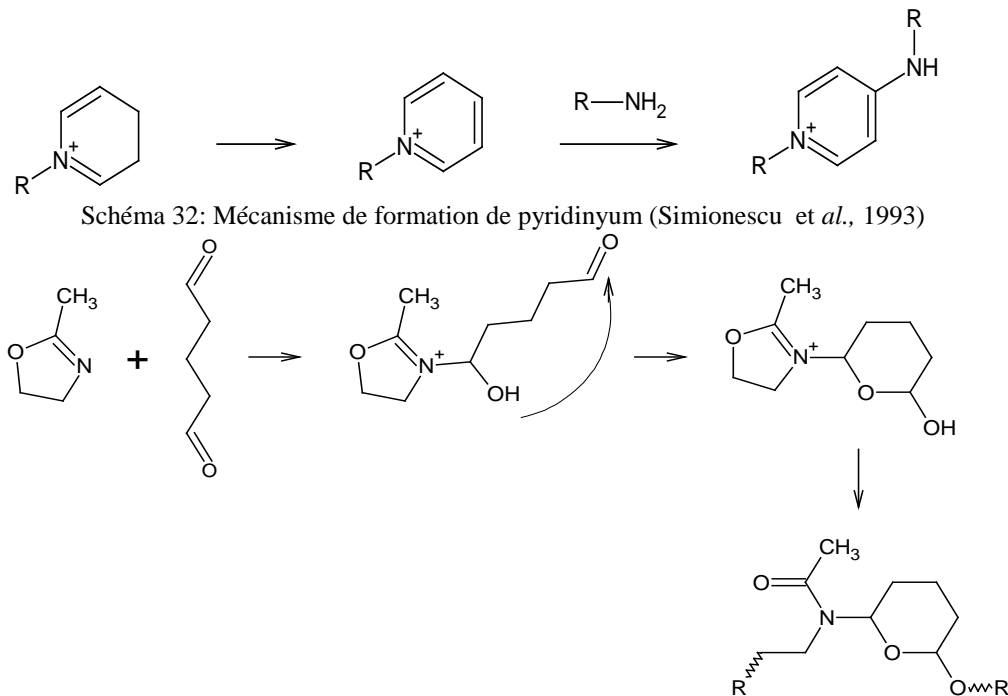


Schéma 33: Mécanisme de formation de pyridinium (Simionescu et al., 1993)

V. Réactivité du glutaraldéhyde avec le collagène

Le GL est utilisé comme agent de réticulation pour les biomatériaux à base de collagène (Nimni et al., 1987 ; Chvapil et al., 1987 ; McPherson et al., 1986 ; Cheung et al., 1982). Une variété de réaction est impliquée dans cette chimie (Schéma 34). Le mécanisme repose sur l'action de l'amine sur la fonction aldéhyde.

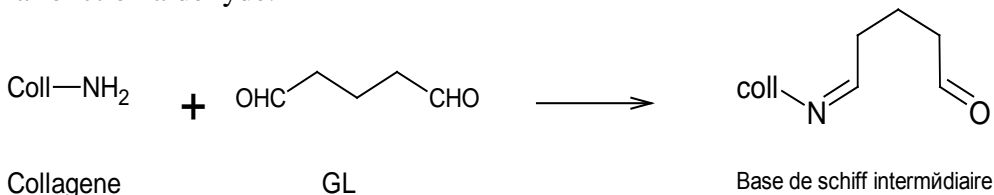
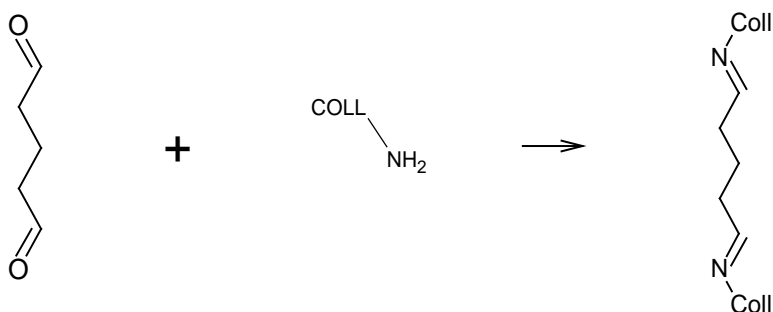


Schéma 34: Formation de la base de schiff collagène – GL

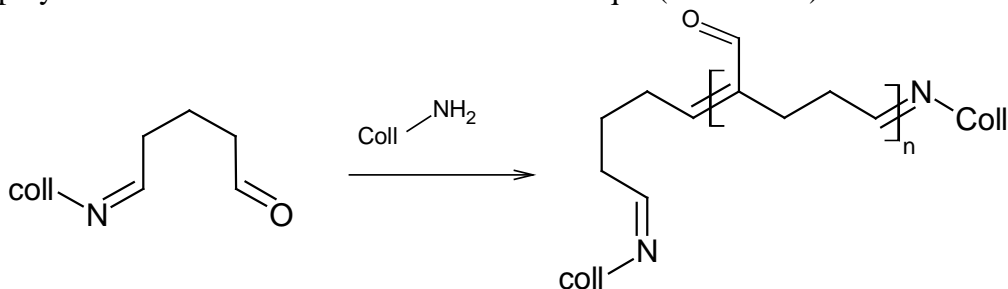
Haugh et *al.*, 2011 confirment que la réticulation de l'amine se fait avec les deux fonctions (-CO) de GL (Schéma 37).



Greffage de deux collagène sur la molécule de GL

Schéma 35: Greffage de deux collagènes sur le GL (Haugh et *al.*, 2011)

En général, la réticulation s'effectue entre le groupement (-CO) de GL et le résidu lysine du collagène (Lubig et *al.*, 1981 ; Tomimatsu et *al.*, 1971 ; Cheung et *al.*, 1982 ; Ruijgrok et *al.*, 1990 ;) Les auteurs avancent que les bases de schiff sont stables dans les conditions de réticulation qui donne le polymère de GL suite à la condensation aldolique (Schéma 36).

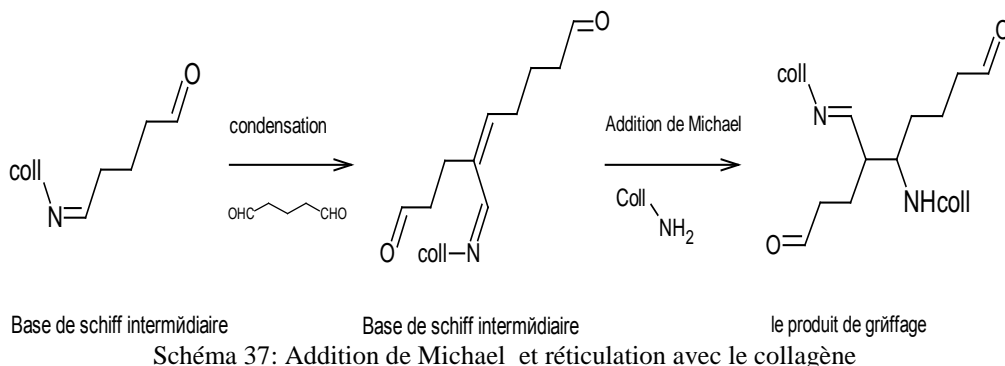


Base de schiff intermédiaire

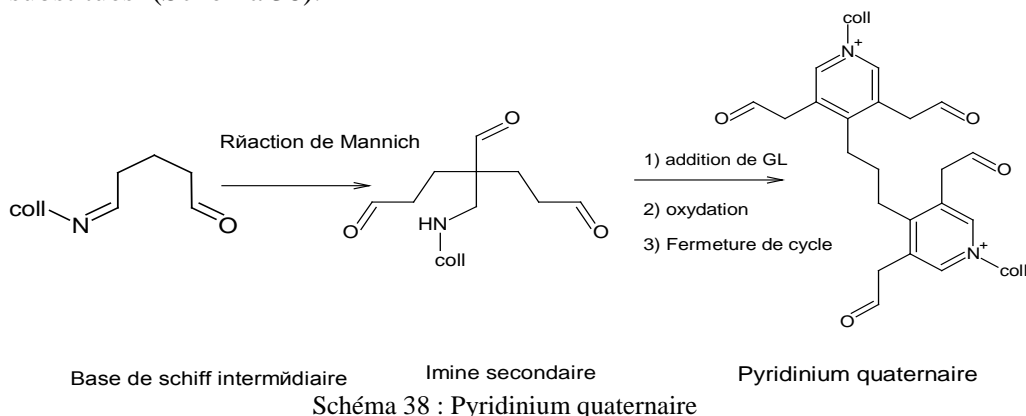
Polymère de GL réticulé

Schéma 36: Condensation aldolique et réticulation avec le collagène

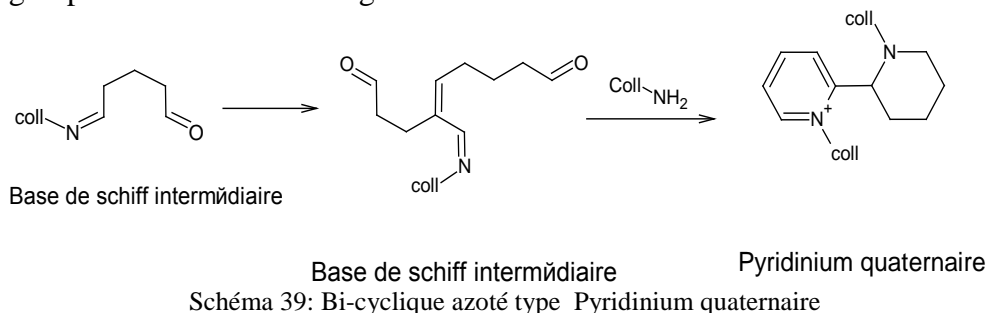
La formation de la base de schiff intermédiaire pour $n = 1$, suivie d'une addition de Michael d'un groupe amine de collagène sur l'insaturée donne le schéma 37).



Les auteurs (Hardy *et al.*, 1976 ; Woodroof., 1978) rapportent le cas de la réaction de Mannich entre un type de base de schiff protonnée et un émol de GL, entraîne la formation d'une imine secondaire. La réaction du composé imine avec une autre molécule et fermeture de cycle GL à 6 chaînons dihydropyridine peut être formée. L'oxydation des liaisons de réticulation du type dihydropyridine par l'oxygène présent dans la solution peut se traduire par la formation de liaison du type pyridinium quaternaires substitués (Schéma 38).



La structure bi-cyclique azotée (Schéma 39) présente la formation d'une réticulation après la réaction de la base de schiff secondaire avec un groupe amine libre de collagène.



Le champ d'application réticulation collagène GL paraît important. Les réactions peuvent se réaliser simultanément. L'interprétation des différents mécanismes, aussi bien que l'investigation de cette chimie demeurent prometteurs.

VI. Réactivité du glutaraldéhyde avec les sucres

La réaction d'un sucre avec le GL porte sur le groupe carbonyle de l'aldéhyde comme point de réticulation avec le groupe amine du sucre (Schéma 40) (Ostrowska-Czubenko et al., 2011). Ce type de réaction fait partie du spectre carbonyle-amine. Elle suit le mécanisme général de la réactivité des protéines et de collagène.

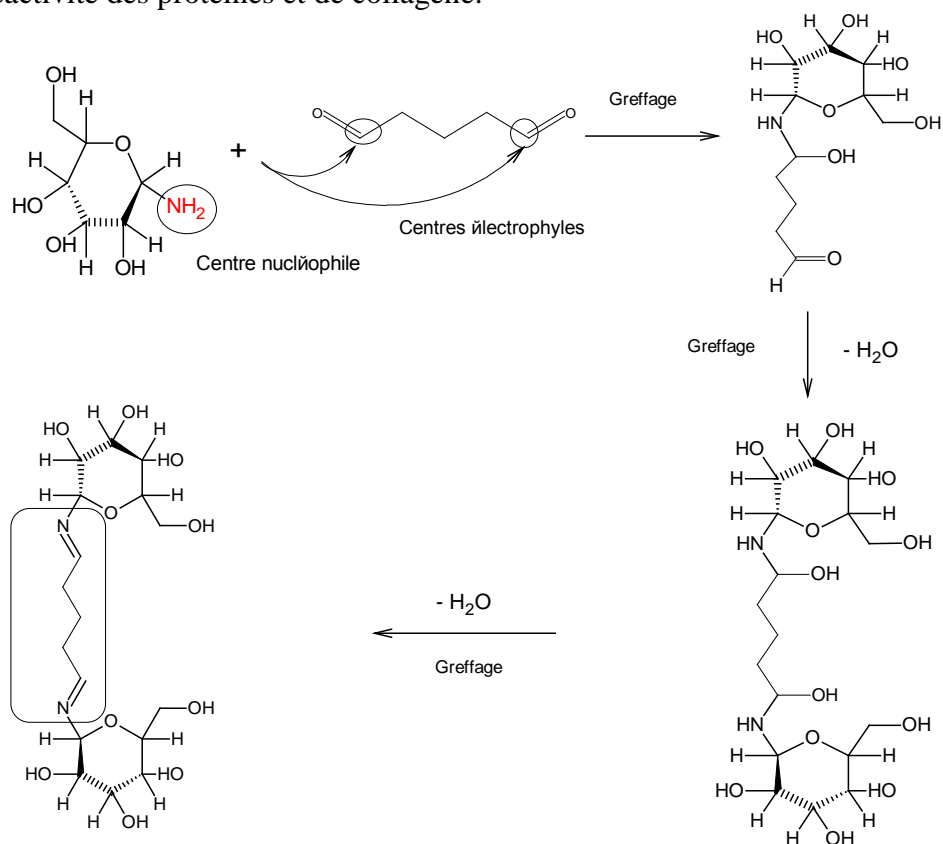


Schéma 40 : Mécanisme de greffage sucre GL (Ostrowska-Czubenko et al., 2011)

A ce niveau, il convient d'observer que le groupement carbonyle de la molécule de GL se comporte chimiquement comme la fonction carbonyle de sucre dans sa forme ouverte. Il convient de souligner de même la glycation non enzymatique des sucres *in vivo*. L'analogie est justifiée, des chercheurs soulèvent le problème sur le volet toxicologie de la molécule de GL *in vivo* (Zeiger et al., 2005 ; Miller et al., 2002 ; HC Red No. 1., 2011).

VII. Réaction de Maillard in vivo (glycation)

Ces réactions interviennent dans un certain nombre de fonctions enzymatiques impliquées dans les troubles de la vision, le vieillissement et la détérioration des tissus vivants. Cette réaction est initiée par la condensation entre un sucre réducteur dans sa forme ouverte et le groupe amine d'un acide aminé (schéma 41). Elle aboutit à la formation de la base de schiff qui existe en équilibre avec un acide glycosylaminé (Hodge., 1953).

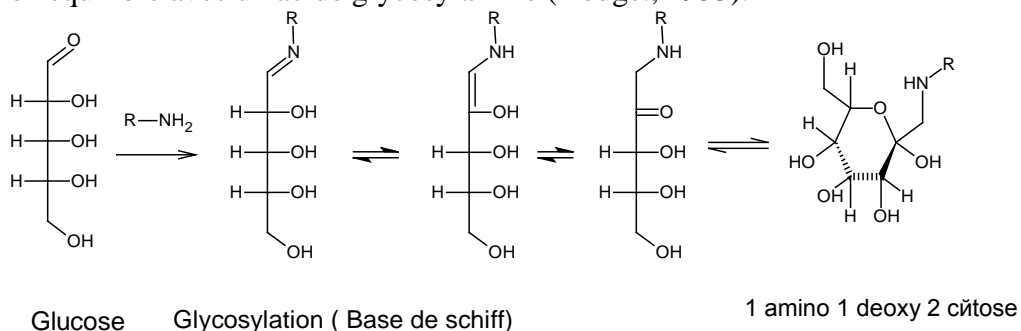


Schéma 41: Réaction de Maillard

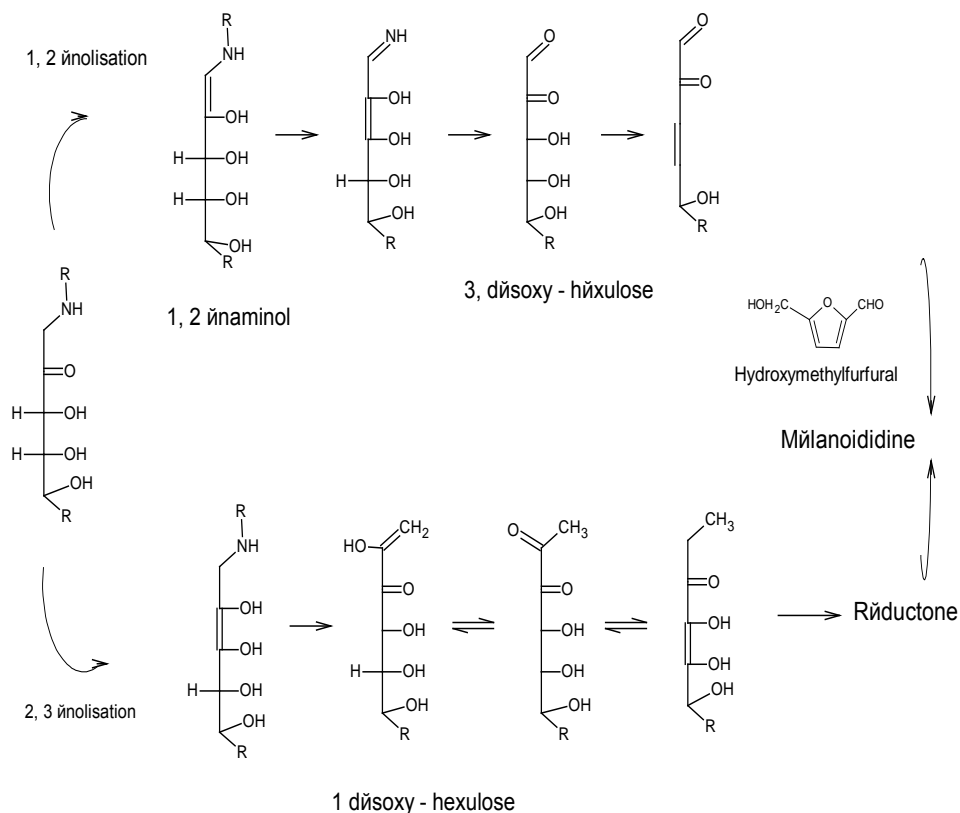


Schéma 42: Enolisation 1, 2 et 2, 3 des composés de Amadoré et de Heyns pour aboutir à la formation des Mélanoidines

La réaction de glycation à fait l'objet d'investigation dans le domaine alimentaire depuis des décennies. Par contre l'étude *in vivo* de la relation entre cette réaction et certaines pathologies, autrement dit le domaine toxicologique vient à peine de commencer (Friedman., 1996). Les AGE correspondent aux produits finaux de glycation. Les avancés en chimie organique, biochimie, en biologie moléculaire et tissulaire ont permis de mieux connaître les AGE et leurs effets cellulaires et tissulaires. Ils sont regroupés sous le nom de glycotoxines. Les glycotoxines sont discernées en excès dans le plasma et les tissus des mammifères au cours de vieillissement, du diabète, et de l'insuffisance rénale. La faveur du rôle pathogène des AGE dans les complications vasculaire se précise. La réaction est décrite par étape : la première de courte durée est une condensation d'un groupement aminé et d'un carbonyle formant une base schiff, suivi d'un arrangement moléculaire conduisant aux produits dit d'amadori. Il s'ensuit la formation de produits de glycation intermédiaires puis de produits finaux ou AGE. Au cours de la glycation, le glyoxal ou le méthyl-glyoxal (un cas documenté) est constitué par auto-oxydation du glucose ou dérivés glycolipidiques et réagissent avec les groupements aminés libres (lysine ou arginine) des protéines pour composer les AGE. Cependant, les progrès dans ce domaine sont entravés par un manque de connaissances fondamentales quant à la nature des liaisons mis en jeu *in vivo*.

VIII. Réactivité du glutaraldéhyde avec les lipides et phospholipides

L'exemple éloquent pour comprendre la réactivité des phospholipide par les carbonyle-amine est le comportement de la phosphatidylamine. La molécule réagit par la réaction d'addition de Michael avec plusieurs produits : Malon dialdéhyde, acroléine, les aldéhydes... (Christie., 2013) ; La réaction avec le glyoxal est illustré par le (schéma 43). Elle est non enzymatique. Le résidu est un médiateur inflammatoire *in vivo*, acteur aggravant dans le diabète et le vieillissement.

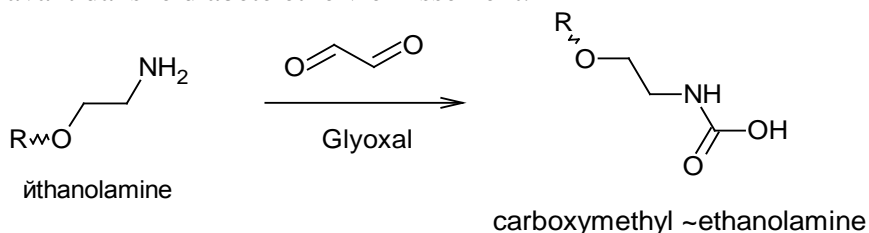
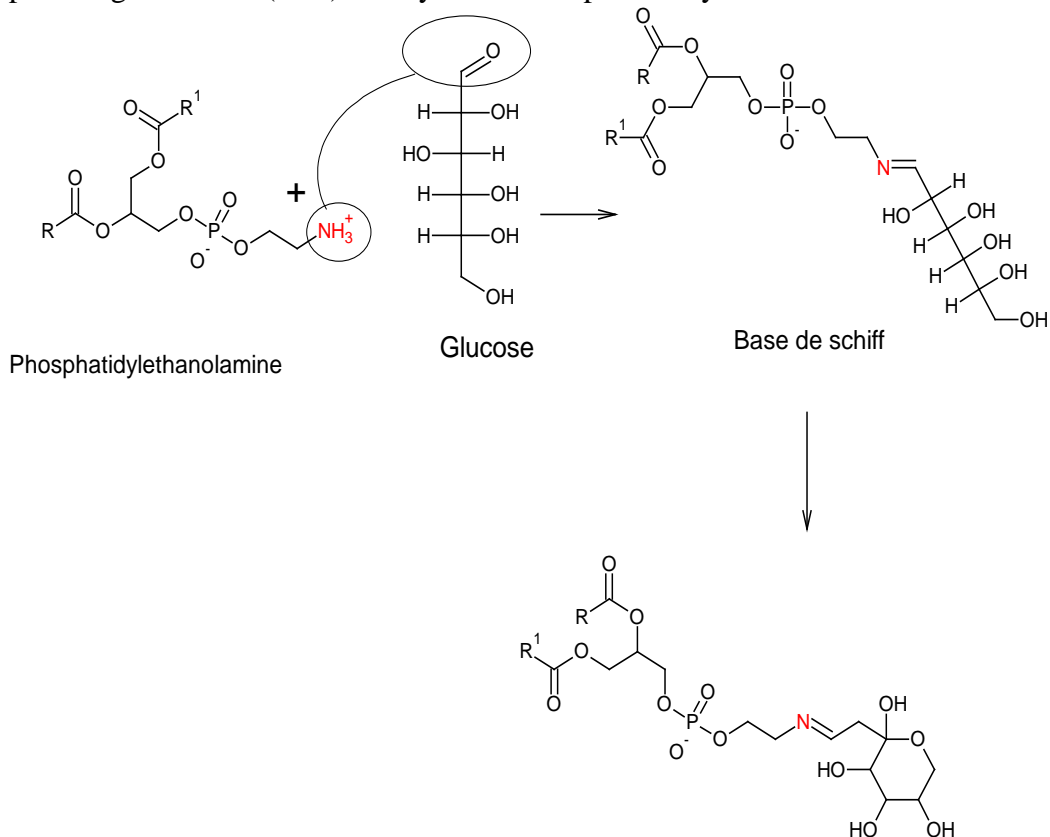


Schéma 43 : Réaction phosphatidylethanolamine avec le glyoxal

La phosphatidylamine, comme aminophospholipide réagit avec la fonction aldéhyde du glucose et avec d'autres sucres pour donner une base de schiff. Le produit de greffage évolue par perte d'une molécule d'eau (Schéma 44). Déoxy-D-fructosyl phosphatidyl ethanolamine stable. Le

deoxy-D-fructosyl phosphatidylethanolamine est un produit d'amadori. Il a un potentiel pathologique certain dans le diabète (Christie., 2013). Le (-NH₂) libre des phospholipides réagit avec le carbonyle de sucre en position ouverte suivant le schéma général de protéines et collagènes. Le même (-NH₂) libre peut réagir avec les (-CO) aldéhyde à l'exemple de Glyoxal et de GL.



Діокси D fructosyl Phosphatidylethanolamine
Schéma 44 : Réaction phosphatidyléthanolamine avec le glucose (Kay et al., 2011)

XI. Conclusion

Le 1,5-dipentanal est une molécule hautement réactive. Les groupements carbonyles réagissent avec les fonctions amines (-NH₂) libres des protéines, des sucres et des phospholipides. Les différentes réactions s'effectuent simultanément. Les bases de schiff formées réagissent de nouveau pour donner des produits azotés type pyridinium. L'évolution in vivo de ces produits est évoquée comme préjudiciable pour la santé. Par ailleurs le GL est une petite molécule miscible à l'eau (100%) et hautement volatilisable. Les vapeurs de glutaraldéhyde contaminent l'air et l'eau. Il induit des malaises respiratoires, Irritation des yeux, des voies respiratoires,

Asthme professionnel. Il peut être impliqué dans des pathologies plus pernicieuses comme AGE ou précurseur d'AGE à l'exemple du méthylglyoxal. Le coté pratique nécessite des protocoles réglementés afin d'éviter :

- Les contaminations croisées (trace de GL après désinfection) ;
- La contamination directe (air, eau contaminés) ;
- Les rejets dans l'assainissement communal ou dans le milieu naturel.

Le comportement physicochimique et biochimique de la molécule ne laisse aucun doute en termes de réactivité avec les composés du vivant. Le travail scientifique *in vivo* sur le 1,5-dipentanal et son implication dans la chimie des agrégats, soupçonnés dans différentes pathologies, reste à accomplir. Par contre le coté polluant des écosystèmes est bien mis en évidence.

References:

- Abdel-Magid A.F, Carson K.G, Harris B.D, Maryanoff C.A, Shah R.D., 1996: Reductive amination of aldehydes and ketones with sodium triacetoxyborohydride. Studies on direct and indirect reductive amination procedures, *J. Org. Chem*; 61, 3849-3862.
- Arend M, Westermann B, Risch N., 1998: Modern variants of the Mannich reaction: reviews, *Angew Chem Int Ed*; 37, 1044-1070.
- Aso C, Aito Y., 1962: Studies on the polymerization of bifunctional monomers. II Polymerization of glutaraldehyde. *Macromolecular Chemistry and physics*; 58, 195-203.
- Benson W.G, 1984: Exposure to glutaraldehyde. *J Soc Occup Med*; 34, 63–64.
- Beyt B.E, King D.K, Glew R.H., 1977: Fatal pneumonitis septicemia after fibre optic bronchoscopy. *Chest*; 72, 105-107.
- Bonnard N, Brondeau M.T, Jargot D, Malard S, Schneider O, Serre P., 2010: Glutaraldehyde, *Fiche Toxicologique*; 171, 1-9.
- Bouzaïd M, Djadi A, Guechtoulli S., 2013: Global Approach and Targeted Approach in the Management of Hospital Effluents, *Journal of Materials Science and Engineering*; B 3 (4), 214-225.
- Brinkmann E, Wells-Knecht K. J, Thorpe S. R, Baynes J. W., 1995: Characterization of an imidazolium compound formed by reaction of methylglyoxal and N-alpha-hippuryllysine. *J. Chem. Soc., Perkin. Trans*; 1, 2817–2818.
- Ceriello A, Marchi E, Barbanti M, Milani M.R, Giugliano D, Quatraro A, Lefebvre P., 1990: Nonenzymatic glycation reduces heparin cofactor II anti-thrombin activity. *Diabetologia*; 33, 205-207.
- Chang Y.C, Ko A.N., 2000: Vapor phase reactions of acetaldehyde over type X zeolites, *Applied Catalysis A: General*; 190, 149–155.
- Chan-Yeung M, McMurren T, Catonio-Begley F, Lam S., 1993:

- Occupational asthma in a technologist exposed to glutaraldehyde. *J Allergy Clin Immunol*; 91, 974-978.
- Cheung D. T, Nimni M. E., 1982: Mechanism of crosslinking of proteins by glutaraldehyde II. Reaction with monomeric and polymeric collagen *Connective Tissue Research*; 10(2), 201-216.
- Christie W.W., 2013: Phosphatidylserine and related lipids, Structure, Occurrence, Biochemistry and Analysis, *AOCS Lipid Library*; 1-7.
- Chvapil M, Gibeault D, Wang T.F., 1987: Use of chemically purified and cross-linked bovine pericardium as a ligament substitute, *Journal of Biomedical Materials Research*; 21 (12), 1383–1393.
- Cohen M.P, Urdanivia E, Surma M, Ciborowski J., 1981: Nonenzymic glycosylation of basement membranes. *Diabetes*; 30, 367-371.
- Cohen I, Burk D, Fullerton R.J, Veis A, Green D., 1989: Nonenzymatic glycation of human blood platelet proteins. *Thromb Res*; 55, 341-349.
- Corrado O.J, Osman J, Davies R.J., 1986: Asthma and rhinitis after exposure to glutaraldehyde in endoscopy units. *Hum Toxicol*; 5, 325–328.
- Cullinan P, Hayes J, Cannon J, Madan I, Heap D, Taylor AN., 1992: Occupational asthma in radiographers. *Lancet*; 340, 1477.
- Djadi A, Bouzid M, Guechtoulli S., 2013: Conception et réalisation d'un laveur désinfecteur d'endoscope. *Journal of Materials, Processes and Environment* ; 1 (1), 18-22.
- Duell P.B, Oram J.F, Bierman E.L., 1991: Nonenzymatic glycosylation of HDL and impaired HDL-receptor-mediated cholesterol efflux. *Diabetes*; 40, 377-384.
- Dumon J.F, Gevaudan M.J, Mallet M.N, Gevaudan P., 1977: Efficacité de la glutaraldéhyde basique comme agent de décontamination en fibroscopie bronchique, *Acta endoscopica et Radiocinematographica* ; VII (5), 405-413.
- Earl B. Whipple, Michael Ruta., 1974: Structure of aqueous glutaraldehyde, *The Journal of Organic chemistry*; 39 (12) 1666-1668.
- Figueiro S.D, Goes J. C, Moreira R.A, Sombra A.S.B., 2004: On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan–collagen films, *Carbohydrate Polymers*; 56, 313–320.
- Friedman M., 1996: Food Browning and Its Prevention: An Overview, *Journal of agricultural and food chemistry*; 44 (3), 631-653.
- Genta I, Costantini M, Asti A, Conti B, Montanari L., 1998: Influence of glutaraldehyde on drug release and mucoadhesive properties of chitosan microspheres, *Carbohydrate Polymers*; 36, 81-88.
- Gerrard J.A, Brown P.K, Fayle S.E., 2002: Maillard crooslinking of food proteins I: the reaction of glutaraldehyde, formaldehyde and glyceraldehydes with ribonuclease, *Food Chemistry*; 79, 343-349.
- Gigg R, Payene S., 1969: The reaction of glutaraldehyde with tissue lipids, *Chem Phys Lipids*; 3, 292-295.

- Gorman S.P, Scott E. M, Russell A. D., 1980: Antimicrobial Activity, Uses and Mechanism of Action of Glutaraldehyde. *Journal of Applied Bacteriology*; 48, 161–190.
- Hardy P. M, Nicholls C, Rydon H. N., 1969: The Nature of Glutarafdehyde in Aqueous Solution, *Chemical communications*; 565-566.
- Hardy P. M, Hughes G. J, Rydon H. N., 1978: The nature of the cross-linking of proteins by glutaraldehyde. Part 2. The formation of quaternary pyridinium compounds by the action of glutaraldehyde on proteins and the identification of a 3-(2-piperidyl)-pyridinium derivative, anabilysine, as a cross-linking entity, *Journal of the chemical society, Perkin transactions*; 1, 2282.
- Hardy P. M, Nicholls A. C, Rydon H. N., 1976: The nature of the cross-linking of proteins by glutaraldehyde. Part I. Interaction of glutaraldehyde with the amino-groups of 6-aminohexanoic acid and of alpha-N-acetylllysine, *Journal of the chemical society. Perkin transactions*; 1 (9), 958-962.
- Haugh M.G, Murphy C.M, McKiernan R.C, Altenbuchner C, O'Brien F.J., 2011: Crosslinking and Mechanical Properties Significantly Influence Cell Attachment, Proliferation, and Migration Within Collagen Glycosaminoglycan Scaffolds, *Tissue engineering : Part A*; 1-8.
- Hayat M. A., 1986: Glutaraldehyde: Role in electron microscopy, *Micron and Microscopica Acta*; 17 (2), 115-135.
- Hermanson G. T., 1996: *Bioconjugate techniques*. San Diego: Academic Press.
- Hodge J. E., 1953: Dehydrated foods: chemistry of browning reactions in model systems, *J. Agr. Food Chem*; 1:928-43.
- Holbova E, Sutoris V, Blockinger G., 1976: Benzothiazol compounds. X. Mannich reaction of mercaptobenzothiazole with primary amines, *Chem zvesti*; 30 (2), 195-199.
- Hopwood D., 1972: Theoretical and practical aspects of glutaraldehyde, *Histochemical Journal*; 4, 267-303.
- Hopwood D., 1967: The behavior of various glutaraldehydes on Sephadex G-10 and some implications for fixation. *Histochemie*; 11, 289-295.
- IARC., 2010 :Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, World Helth Organization international Agency for Research on Cancer; 99, ISBN: 978 92 832 1299 7 ed IARC Monographs.
- Jayakrishnan A, Jameela S.R., 1996: Glutaraldehyde as a fixative in bioprotheses and drug delivery matrices: Review, *Biomaterials*;17 (5), 471-484.
- Jetté L. P, Ringuette L, Ishak M, Miller M, Saint-Antoine P., 1995: Evaluation of three glutaraldehyde-based disinfectants used in endoscopy, *Journal of Hospital Infection*; 30, 295-303.
- Jolibois B, Guerbet M, Vassal S., 2002: Glutaraldehyde in hospital

- wastewater. Archives of environmental contamination and toxicology; 42, 137-144.
- Kari F.W., 1993: Glutaraldehyde (CAS No. 111-30-8), National Toxicology Program, Toxicity Report, Series Number 25, NIH Publication; 93-3348, 1-120.
- Kay J.G, Grinstein S., 2011: Sensing Phosphatidylserine in Cellular Membranes, Sensors; 11, 1744-1755.
- Keeldeva N. R, Perminov P. A, Vladimirov L. P, Novokov V. V, Mikhailov S. N., 2009: About Mechanism of Chitosan Cross-Linking with Glutaraldehyde, Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 35 (3), 360–369.
- Kiernan J.A., 2000: Formaldehyde, formalin, paraformaldehyde and glutaraldehyde: what they are and what they do. Microsc. Today; 00-1, 8-12.
- Klein R., 1995: Hyperglycemia and macrovasculair disease in diabetes. Diabetes Care; 18, 258-68.
- Korn A.H, Fearheller S.H, Filachione E.M., 1972: Glutaraldehyde: Nature of the Reagent, J. Mol. Biol; 65, 525-529.
- Kortlandt W, Benschop C, Van-Rijn H.J.M, Erkelens D.W., 1992: Glycated low density lipoprotein catabolism is increased in rabbits with alloxan-induced diabetes mellitus. Diabetologia; 35, 202-207.
- Le Fol T, Vaillant C., 2009: Traitement des endoscopes : état de l'art et application au centre hospitalier universitaire d'Angers. IRBM; 30, 292–301.
- Leung H-W., 2001: Ecotoxicology of Glutaraldehyde : Review of Environmental Fate and Effects Studies. Ecotoxicology and Environmental Safety; 49, 26-39.
- Liang I.N, Hershorin L.L, Chylack L.T., 1986: Nonenzymatic glycosylation in human diabetic lens crystallins. Diabetologia; 29, 225-228.
- Lubig R, Kusch P, Roper K, Zahn H., 1981: Zum Reaktionsmechanismus von (glutaraldehyd mit Proteinen, Monatshefte fur chimie; 112, 1313-1323.
- Lutjens A, Velde A.A.te, Veen E.A.v.d, Meer J.v.d., 1985: Glycosylation of human fibrinogen in vivo. Diabetologia; 28, 87-89.
- Mamo J.C.L, Szeto L, Steiner G., 1990: Glycation of very low density lipoprotein from rat plasma impairs its catabolism. Diabetologia; 33, 339-345.
- Margel S, Rembaum A., 1980: Synthesis and Characterization of Poly(glutaraldehyde). A Potential Reagent for Protein Immobilization and Cell Separation, Macromolecules, 13, 19-24.
- McPherson J. M, Ledger P. W, Sawamura S, Conti A, Wade S, Reihanian H, Wallace D. G., 1986: The preparation and physicochemical characterization of an injectable form of reconstituted, glutaraldehyde cross-linked, bovine corium collagen, Journal of Biomedical Materials Research; 20 (1), 79-92.

- Migneault I, Dartiguenave C, Bertrand M.J, Waldron K.C., 2004: Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking, *BioTechniques*; 37 (5), 790-802.
- Molnar A, Rac B., 2006: Organic Transformations over Silica Materials Modified by Covalently Bonded Surface Functional Groups, *Current organic chemistry*; 10 (13), 1697-1726.
- Monsan P, Puzo G, Mazarguil H., 1975: Etude du mécanisme d'établissement des liaisons glutaraldéhyde-protéines, *Biochimie*; 57, 1281-1292.
- Monsan P., 1978: Influence of the conditions of trypsin immobilization onto Spherosil on coupling efficiency. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol*; 5, 1-11.
- Nimni M. E, Cheung D, Strates B, Kodama M, Sheikh K., 1987: Chemically modified collagen: A natural biomaterial for tissue replacement, *Journal of Biomedical Materials Research*; 21 (6), 741–771.
- Nishimoto S, Oimomi M, Baba S., 1989: Glycation of collagen in the aorta and the development of ageing. *Clin Chim Acta*; 182, 235-237.
- Okuda K, Urabe I, Yamada Y, Okada H., 1991: Reaction of Glutaraldehyde with Amino and Thiol Compounds. *Journal of fermentation and bioengineering*; 71 (2), 100-105.
- Ong T.H, Tan K.L, Lee H.S, Eng P., 2004: A case report of occupational asthma due to glutaraldehyde exposure. *Ann Acad Med Singapore*; 33, 275-278.
- Ostrowska-Czubenko J, Pieróg M, Gierszewska-Drużyńska M., 2011: State of water in noncrosslinked and crosslinked hydrogel chitosan membranes – DSC studies. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its*; XVI, 147-156.
- Quiocho F.A, Richards F.M., 1966: The enzymic behavior of carboxypeptidase-A in the solid state. *Biochemistry*; 5,4062-4076.
- Quirce S, Gomez M, Bombin C, Sastre J., 1999: Glutaraldehyde-induced asthma. *Allergy*; 54, 1121-1122.
- Rahal K, Belouni R, Tali-Maamar H, Boudouane M, Missoum M.F.K, Benslimani A, Aboun A., 2009: Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, in: 10th Evaluation Report, Project of the World Health Organization, People's Democratic Republic of Algeria; 18-123.
- Rey J.F, Davranche E, Kassentini P, Sempere Y, Greff M., 1987: Désinfection des endoscopes par un complexe phénate-glutaraldéhyde (Sporicidine), *Acta andoscopica* ; 17 (1), 47-49.
- Richards F.M, Knowles J.R., 1968: Glutaraldehyde as a Protein Cross-linking Reagent, *J Mol Biol*; 37, 231-233.
- Ritter., 1990: Acute Toxicity of Piror 850 to *Scenedesmus subspicatus*; *RCC Umweltchemie. Project No 245340*.

- Roosmond R.C., 1969: The effect of fixation with formaldehyde and glutaraldehyde on the composition of phospholipids extractable from rat hypothalamus, *J. Histochem Cytochem*; 17, 482-486.
- Ruijgrok J. M, Boon M. E, DE Wijn J. R., 1990: The effect of heating by microwave irradiation and by conventional heating on the aldehyde concentration in aqueous glutaraldehyde solutions, *Histochemical Journal*; 22, 389-393.
- Russel A.D, Hopwood D., 1976: The biological use and importance of glutaraldehyde. *Prog Med Chem*; 13, 271-301.
- Sabatini D.D, Bensch K, Barnett R.J., 1963: Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J Cell Biol*; 17, 19-58.
- Sampietro T, Lenzi S, Cecchetti P, Giampietro O, Crushelli L, Navalesi R., 1986: Nonenzymatic glycation of human platelet membrane proteins in vitro and in vivo. *Clin Chem*; 32, 1328-1331.
- Sano L.L, Moll R.A, Krueger A.M, Landrum P.F., 2003: Assessing the Potential Efficacy of Glutaraldehyde for Biocide Treatment of Un-ballasted Transoceanic Vessels. *J. Great Lakes Res*; 29 (4) 545–557.
- Sano L.L, Krueger A.M, Landrum P.F., 2005: Chronic toxicity of glutaraldehyde: differential sensitivity of three freshwater organisms, *Aquatic Toxicology*; 71, 283-296.
- Sartori A, Henriques-Bechara E.J., 2010: Is methylglyoxal an endogenous toxin? *Quim. Nova*; 33 (10), 2193-2201.
- Shimizu K, Hayashi E, Inokuchi T, Kodama T, Hagiwara H, Kitayama Y., 2002: Self-aldol condensation of unmodified aldehydes catalysed by secondary-amine immobilised in FSM-16 silica, *Tetrahedron Letters*; 43, 9073–9075.
- Sigwalt C., 2009: Traitement des effluents liquides, *Technique hospitalière*; 715, 53-56.
- John W.G, Lamb E.J., 1993: The maillard or browning reaction in diabetes, *Eye*; 7, 230-237.
- Simionescu C. I, David G, Sandescu F., 1993: Zwitterionic copolymerization of 2-méthyl-2-oxazoline with muconic acid and glutaraldehyde, *Eur. Polym. J.*; 29 (12), 1595-1600.
- Stenton S.C, Beach J.R, Dennis J.H, Keaney N.P, Hendrick D.J., 1994: Glutaraldehyde, asthma and work—a cautionary tale. *Occup Med (Lond)*; 44, 95–98.
- Stevens V.J, Rouzer C.A, Monnier V.M, Cerami A., 1978: Diabetic cataract formation: potential role of glycosylation of lens crystallins. *Proc Nat Acad Sci USA*; 75, 2918-2922.
- Stratton I.M, Adler A.I, Neil H.A, Matthews D.R, Manley S.E, Cull C.A, Hadden D, Turner R.C, Holman R.R., 2000: Association of glycaemia with

- macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): Prospective observational study. *BMJ* ; 32, 405-412.
- Sutherland B.W, Toews J, Kast J., 2008: Utility of formaldehyde cross-linking and mass spectrometry in the study of protein–protein interactions; *J. Mass Spectrom*; 43, 699-715.
- Takigawa T, Endo Y., 2006: Effects of glutaraldehyde exposure on human health, *Journal of Occupational Health*; 48, 75-87.
- Tarsio J.F, Reger L.A, Furcht L.T., 1987: Decreased interaction of fibronectin, type IV collagen, and heparin due to nonenzymatic glycation: implications for diabetes mellitus. *Biochemistry*; 26, 1014-1020.
- Tashima T, Imai M, Kuroda Y, Yagi S, Nakagawa T., 1991: Structure of a new oligomer of glutaraldehyde produced by aldol condensation reaction, the *Journal of Organic Chemistry*; 56 (2), 694-697.
- Tharun J, Sudheesh N, Shukla R.S., 2010: Amino functionalized chitosan as a catalyst for selective solvent-free self-condensation of linear aldehydes, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*; 333, 158–166.
- Thomas S, Russell A. D., 1974: Temperature-Induced Changes in the Sporicidal Activity and Chemical Properties of Glutaraldehyde Applied *Microbiology*; 28 (3), 331-335.
- Tomimatsu Y, Jansen E. F, Gaffield W, Olson A. C., 1971: Physical Chemical Observations on the α -Chymotrypsin Glutaraldehyde System during Formation of an Insoluble Derivative, *Journal of Colloid and Interface Science*; 36 (1), 51-64.
- UCES., 1977: The Acute Toxicity of 25% Aqueous Glutaraldehyde to the Water Flea, *Daphnia magna* Straus. Union Carbide Environmental Services (UCES); Project No 11506-61-03.
- Van Miller J.P, Hermansky S.J, Losco P. E, Ballantyne B., 2002: Chronic toxicity and oncogenicity study with glutaraldehyde dosed in the drinking water of Fischer 344 rats, *Toxicology*; 175, 177–189.
- Vilkas., 1978a: The Acute Toxicity of 50% Glutaraldehyde to the Water Flea, *Daphnia magna* Straus. Union Carbide Environmental Services; Project No 11506-61-04.
- Vilkas., 1978b: The Acute Toxicity of 50% Glutaraldehyde to Bluegill Sunfish, *Lepomis macrochirus* Rafinesque. Union Carbide Environmental Services; Project No 11506-61-06.
- Vlassara H, Brownlee M, Cerami A., 1981: Nonenzymic glycosylation of peripheral nerve protein in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA*; 78, 5190-5192.
- Vlassara H, Brownlee M, Cerami A., 1983: Excessive nonenzymic glycosylation of peripheral and central nervous system myelin components in diabetic rats. *Diabetes*; 32, 670-674.
- Vollhardt K.P.C, Schore N.E., 1999: *Traité de chimie organique*, ed De

Boeck Université; ISBN : 2-8041 3153-X.

Walt D.R, Agayn V.I., 1994: The chemistry of enzyme and protein immobilization with glutaraldehyde, trends in analytical chemistry; 13 (10), 425-430.

Woodroof E.A., 1978: Use of glutaraldehyde and formaldehyde to process tissue heart valves, Journal of bioengineering; 2, 1-9.

Wood W.G, Gadow A., 1983: Immobilisation of antibodies and antigens on macro solid phases- a comparison between adsorptive and covalent binding. A critical study of macro solid phases for use in immunoassay systems. Part I, J. Clin. Chem. Clin. Biochem; 21, 789-797.

Zeiger E, Gollapudi B, Spencer P., 2005: Genetic toxicity and carcinogenicity studies of glutaraldehyde - a review, Mutation Research; 589, 136–151.