

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

l'ilière : Biologie

Spécialité/Option : Qualité des produits et Sécurité Alimentaire

Thème :

Contribution à l'étude *in silico* de l'interaction de la
guanine avec des nanostructures (cas de : Al_2O_3 et ZnO)

Présenté par :

- BOUYEDDA Hanane
- ZAGHLAMI Ahlem

Devant le jury composé de :

Président	: Dr. ZERGUINE Karima	(M.C.B)	Université de Guelma
Examinateur	: Dr. SOUIKI Lynda	(M.C.A)	Université de Guelma
Encadreur	: Dr. DJEKOUN Mohamed	(M.C.B)	Université de Guelma
Membre invité	: M. LARGET Leila	(M.A.A)	Université de Guelma

Juin 2015

*** REMERCIEMENT ***

Avant tout remercions le « Dieu » Nous a montré le droit chemin, qui nous

Emmené à ce stade éducatif.

Comme toute thèse, cette recherche a été ponctuée de nombreux moments d'enthousiasme et de joie, mais également de nombreuses périodes de doute de découragement. L'achèvement de ce travail n'aurait pas été possible sans la précieuse contribution de nombreuses personnes que je veux remercier ici.

Nous tenons à exprimer nos plus vives reconnaissances à notre directeur de recherche, monsieur le docteur *Djehannem M. Mahammed*, sans lui ce travail n'aurait pas été possible ses capacités scientifiques et ses compétences étaient notre grand support. notre projet sous sa direction était pour nous un grand honneur et un immense bonheur. Nous le remercions très sincèrement pour la confiance qu'il nous a accordé en acceptant de diriger cette recherche. Par son soutien, sa disponibilité ses précieux conseils, il nous a permis d'accomplir ce travail ce travail. enfin nous tenons à le remercier pour ses qualités humaines d'écoute et son soutien moral pendant le moment difficiles.

Nous tenons à remercier spécialement les membres de jury qui ont pris sur leur temps et aménager leur volonté pour examiner et porter une analyse critique sur notre travail.

Nous remercions également à *Melle Lorget leila* et *nigri souvic* pour sont aide précieuse.

Nous souhaitons adresser nos sincères remerciements à tous ceux qui nous ont apporté de près de loin. Aides et conseils lors de l'élaboration de cette recherche de fin d'étude. nous ne pouvons pas terminer ces remerciements sans avoir une pensée pour *nos parents* et *nos familles* pour le soutien moral qu'elles nous ont porté.

Liste des figures

N° : Figure	Titres	Page
Fig : 01	Exemples de structures de nanoparticules	2
Fig : 02	Comparaison relative de la taille de certains nanomatériaux avec des composants du monde biologique.	2
Fig : 03	Voies d'exposition de l'homme aux nanoparticules	6
Fig : 04	Contamination et devenir des nanoparticules dans l'environnement.	9
Fig : 05	L'ARN et l'ADN, des acides nucléiques existant dans la nature	15
Fig : 06	La structure de l'ADN	18
Fig : 07	Les sites nucléophiles de l'ADN les plus réactifs aux agents alkylants	22
Fig : 08	A gauche : Structure de l'alumine. A droite : Microbilles d'alumine	23
Fig : 09	L'interface de logiciel Gaussian	26
Fig : 10	Les sites de protonation de la guanine (A : 2D, B : 3D).	29
Fig : 11	La forme tautomère de la Guanine (A : la forme Cétone, B : la forme Énol).	30
Fig : 12	mutation spontanée par transition.	31
Fig : 13	L'aspect des différentes formes chimiques de la Guanine neutre après application des méthodes de calcul (PM3, HF et DFT)	32
Fig : 14	L'aspect des différentes formes chimiques de la Guanine protonée (N7) après application des méthodes de calcul (PM3, HF et DFT)	33
Fig : 15	L'aspect des différentes formes chimiques de la Guanine protonée (O10) après application des méthodes de calcul (PM3, HF et DFT)	34
Fig : 16	Spectre du Guanine neutre	35
Fig : 17	Spectre du Guanine protonée au niveau N7.	35
Fig : 18	Spectre du Guanine protonée au niveau O10.	36
Fig : 19	L'aspect des différentes formes chimiques de la Guanine Al_2O_3 après application des méthodes de calcul (PM3, HF et DFT)	39
Fig : 20	L'aspect des différentes formes chimiques de la Guanine-ZnO après application des méthodes de calcul (PM3, HF et DFT)	40
Fig : 21	La visualisation des orbitales LUMO et HOMO pour : (Guanine neutre, Guanine- Al_2O_3 et Guanine- Al_2O_3)	41
Fig : 22	Spectre du complexe Guanine Oxyde d'aluminium.	41
Fig : 23	Spectre du complexe Guanine Oxyde du Zinc.	42

Liste des tableaux

N° : Tableaux	Titre	Page
Tab : 01	Evolution des propriétés des particules à l'échelle nanométrique	3
Tab : 02	Exemples de propriétés recherchées par l'utilisation de nanoparticules dans différents secteurs d'activité économique	4
Tab : 03	descriptif de nanoparticule de l'oxyde d'aluminium	24
Tab : 04	descriptif de nanoparticule de l'oxyde de zinc	24
Tab : 05	Les énergies de la Guanine et guanine protonée.	30
Tab : 06	Les paramètres géométriques de la Guanine neutre.	31
Tab : 07	Les paramètres géométriques de la Guanine protonée(N7).	32
Tab : 08	Les paramètres géométriques de la Guanine protonée(O10).	32
Tab : 09	Des fréquences expérimentales et simulées au niveau N7	36
Tab : 10	Des fréquences expérimentales et simulées au niveau O10	37
Tab : 11	énergies de la Guanine-Al ₂ O ₃ et Guanine-ZnO.	37
Tab : 12	Les paramètres géométriques de la Guanine - Oxyde d'aluminium.	38
Tab : 13	Les paramètres géométriques de la Guanine - Oxyde de zinc.	39
Tab : 14	Des fréquences expérimentales et simulées du Complexe Guanine-Al ₂ O ₃ .	42
Tab : 15	Des fréquences expérimentales et simulées du Complexe Guanine-ZnO.	43

Liste des abréviations

3R : Remplacement, Réduction et Raffinement

8-OXO-G : 8 OxoGuanosine

ADN : l'Acide DésoxyriboNucléique

Al₂O₃ : Oxyde d'aluminium

AP : Affinité Protonique

ARN : l'Acide RiboNucléique

B3LYP: Becke 3-Parameter Lee-Yang-Parr

°C : Degré Celsius

CdS : sulfure de cadmium

CdSe : Le séléniure de cadmium

Cd/Te : Le tellurure de cadmium

CeO₂ : Oxyde de cérium

Cm⁻¹ : centimètre

Cu : cuivre

DFT : Théorie Fonctionnelle de la Densité

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

Fe : Fer

G/mol: gramme par mol

HF: Hartree-Fock

HOMO : acronyme de Highest Occupied Molecular Orbital

IR: InfraRouge

Kcal/ mol : kilocalories par mol

LUMO : acronyme de Lowest Unoccupied Molecular Orbital

M : Mètre

Nm : Nanomètre

NPs: Nanoparticules

OH: Radical Hydroxyl

PM3: Parametric Method 3

REACH : Enregistrement, Evaluation, Autorisation, Restriction, Substance Chimique

SiO₂ : Dioxyde de Silicium

T° : Température

TiO₂ : Dioxyde de Titane

UE : Union Européenne

µm : micromètre

UV : Ultra Violet

Zn : Zinc

ZnO : Oxyde de zinc

Produced with ScanTOPDF

SOMMAIRE

- Liste des figures
- Liste des tableaux
- Liste des abréviations
- Introduction Générale

CHAPITRE I : LES NANOPARTICULES

	PAGE
1. Les nanoparticules.....	1
1.1. Initiation au monde nanométrique.....	1
1.2. Les sources des nanoparticules.....	3
1.3. Propriétés innovantes des nanoparticules.....	3
1.4. Domaine d'utilisation.....	3
1.5. Les risques potentiels des nanotechnologies.....	4
1.5.1. Bases d'une réflexion scientifique.....	4
1.5.2. Les risques pour la santé humaine.....	5
1.5.2.1. Voies d'entrée des NPs dans l'organisme.....	5
1.5.3. Risque des nanoparticules sur l'environnement.....	8
1.5.4. Toxicité générale des NPs.....	9
1.5.5. Étude du mécanisme de génotoxicité.....	10
2. Le règlement REACH.....	10
2.1. Le principe du règlement REACH.....	11
2.2. Les méthodes alternatives.....	11
2.2.1. Les « 3R » : principes éthiques de l'expérimentation animale.....	12
2.3. Qu'appelle-t-on méthodes alternatives ?.....	12
2.3.1. Les méthodes de substitution.....	13
2.3.2. Les méthodes de réduction.....	13
2.3.3. Les méthodes de raffinement.....	13
2.4. Les méthodes <i>in silico</i>	13
2.4.1. Les avantages des tests sur les animaux.....	14
2.4.1.1. Réduire les tests sur les animaux.....	14

2.4.1.2. Réduire les couts et les délais.....	14
2.4.1.3. Permettre de tester un grand nombre de substances chimiques.....	14
2.4.1.4. Augmenter la qualité des informations.....	14

CHAPITRE II : LES ACIDES NUCLEIQUES

1. Les acides nucléiques.....	15
1.1. Les différents types d'acide nucléique.....	15
1.2. La localisation.....	16
1.3. La Composition.....	16
1.4. Les liaisons.....	16
1.4.1. Les liaisons phosphodiester	16
1.4.2. Liaisons covalentes.....	17
1.4.3. Liaisons hydrogène.....	17
2. L'acide désoxyribonucléique.....	17
2.1. Les Bases azotées.....	18
2.2. Le rôle de l'ADN.....	19
2.3. Les dommages causés aux bases azotées	19
2.4. La mutation (génétique)	19
2.4.1. Les agents mutagènes	20
2.4.2. Transmission des mutations	20
2.4.3. Les différents types de mutation.....	20
2.5. Les sites réactifs de l'ADN.....	21
2.6. L'effet mutagène.....	22

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES DE CALCUL

1. Matériel.....	23
1.1 Choix de substances à tester.....	23
1.2. Définition d'oxyde d'aluminium.....	23
1.3.2. Propriétés physico-chimique de l'oxyde d'aluminium.....	24
1.4. Définition de l'oxyde de Zinc.....	24

1.5. Propriétés physico-chimique de l'oxyde de zinc.....	24
2. Les méthodes de calcul.....	25
2.1. Gaussian	25
2.1.1. Fonctionnalités.....	25
2.1.2. Méthodes de calcul utilisées	26
2.1.2.1. Semi-empirique(PM3).....	26
2.1.2.2. Méthode de Hartree-Fock.....	27
2.1.2.3. La Théorie Fonctionnelle de la Densité (DFT).....	27
2.1.3. Les fonctions de base.....	27
2.1.4. Étude spectroscopique.....	28

RESULTAT ET DISCUSSION

1. Résultat.....	30
2. Discussion.....	43
Conclusion.	
Référence bibliographique.	
Résumé.	
Annexes.	

Produced with Scantopdf

Produced with ScanTOPDF

INTRODUCTION CENTER

Une des tendances actuelles en matière de recherche scientifique est de produire des nanostructures faites d'une grande variété de matériaux et d'en comprendre les propriétés et fonctionnalités afin de développer de nouvelles technologies.

En raison de leur taille nanométrique les nanomatériaux possèdent des propriétés physico-chimiques différentes des mêmes matériaux de plus grande taille. Ces propriétés uniques sont utilisées dans tous les domaines d'applications. Les nanotechnologies sont aujourd'hui un outil irremplaçable dans l'étude chimique biologique et médicale du vivant.

Même si ces technologies offrent un extraordinaire potentiel, elles peuvent présenter certains dangers.

Les effets toxiques des nanoparticules ont été évalués *in vitro*, sur les bases nucléiques. Nous nous sommes concentrés sur deux types de nanoparticules métalliques, en raison de leurs intérêts technologiques et de leurs caractéristiques physicochimiques différentes : les nanoparticules inorganiques de composition métallique (oxyde de zinc et oxyde d'aluminium).

Actuellement la recherche est plus focalisée sur les effets des nanoparticules sur la santé humaine que sur les écosystèmes pour évaluer leur toxicité, le règlement **REACH** (enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des produits chimiques), devrait très prochainement s'engager dans une démarche de réglementation sur les nanomatériaux.

Les législateurs, les scientifiques et l'industrie ont convenu que les tests des substances chimiques devaient respecter les **(3R)** l'engagement de **R**éduire, **R**affiner et **R**emplacer chaque fois que possible, les tests sur les animaux.

L'expérimentation animale perd rapidement du terrain dans l'industrie cosmétique et le même phénomène s'étend progressivement aux secteurs pharmaceutique et alimentaire. C'est pourquoi d'autres méthodes fiables permettant de tester la toxicité et la mutagénicité des composés chimiques sont aujourd'hui nécessaires. La majorité des tests *in silico* se basent sur des modèles de calcul pour évaluer la sécurité des substances chimiques. Au sens large, la modélisation implique l'utilisation d'outil informatique dédiée à la représentation des molécules et des méthodes de calcul théoriques (**logiciel Gaussian 09**).

Les objectifs du présent PFE sont de trois ordres : scientifiques, méthodologique et d'amélioration des gestions.

L'objectif scientifique vise à améliorer les connaissances actuelles des nanoparticules et leurs effets toxiques sur la vie sanitaire et environnementale.

L'objectif méthodologique vise à développer de nouveaux tests fondés sur les méthodes alternatives à l'utilisation des animaux et de démontrer que ces tests sont réellement prédictifs et mieux adaptés aux questions soulevées par les tests traditionnels.

L'objectif d'amélioration des gestions vis à exploiter les résultats de ce PFE en fournissant des recommandations destinées à améliorer la sécurité de ces nouveaux matériaux (nanoparticules).

Afin de présenter l'étude menée en ce sens, le présent manuscrit s'articule en deux parties : un état d'art sur les nanoparticules et l'autre est consacré à l'application de l'outil informatique.

Dans la partie bibliographique,

- ❖ Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique concernant des informations sur les nanoparticules et les méthodes alternatives.
- ❖ Le deuxième chapitre est quant à lui dédié à une présentation condensée sur les acides nucléiques les réactionnels et les différents type de mutations.
- ❖ La partie d'application présente le matériel et les méthodes de calculs effectués avec le logiciel **Gaussian 09**.

CHAPTER 1

Produced with ScantopDF

Les nanotechnologies et nanosciences constituent un champ de recherche et de développement important depuis le Début du XXIème siècle ces disciplines véritables convergences entre la physique, la chimie et la biologie.

Les nanotechnologies reposent sur la capacité à manipuler la matière à l'échelle la plus petite possible, de l'ordre du milliardième de mètre soit 10^{-9} m. L'utilisation des Nanoparticules à l'échelle mondiale est considérable et ne cesse de s'accroître notamment sur le plan médical, environnemental et industriel. Les nanoparticules sont considérées comme des facteurs de risques potentiels pour la santé (Marie, 2014).

1. Les nanoparticules :

1.1. Initiation au monde nanométrique :

Les nanomatériaux sont définis comme des matériaux sous forme de poudre, d'aérosol, de suspension liquide ou de gel, possédant une ou plusieurs dimensions à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire de l'ordre du milliardième de mètre ou 10^{-9} m (Figure 01).

Les nanomatériaux sont des assemblages d'atomes dont au moins une dimension est comprise entre 1 et 100 nm (Buzea et al., 2007). La limite inférieure admise est de 1 nm ; elle vise à éviter que l'on désigne comme nanomatériaux des atomes ou molécules seuls ou en petit groupe. La limite supérieure admise est de 100 nm, car c'est, en général, l'ordre de grandeur maximal pour lequel les propriétés physicochimiques des nanomatériaux s'expriment (Borm et al., 2006). Les nanomatériaux ont des structures classées selon le nombre de dimension à l'échelle nanométrique (Buzea et al., 2007):

- ❖ **Matériaux de dimension 1** : Les nanotubes, dendromètres, nano fils, fibres et fibrilles ont une seule de leur dimension à l'échelle nanométrique (caractérisés par une structure linéaire).
- ❖ **Matériaux de dimension 2** : les films minces et revêtements de surface ont deux dimensions à l'échelle nanométrique (caractérisés par une structure plane).
- ❖ **Matériaux de dimension 3** : les fullerènes, nanoparticules, etc. ont leurs trois dimensions dans le domaine nanométrique, sous forme compacte (caractérisés par une structure polyédrique ou sphéroïde).

Cette structure peut être simple, telle la nanoparticule, ou plus complexe, et former des agrégats ou agglomérats de nanoparticules (Figure 02) (Mérat-tagnard, 2008).

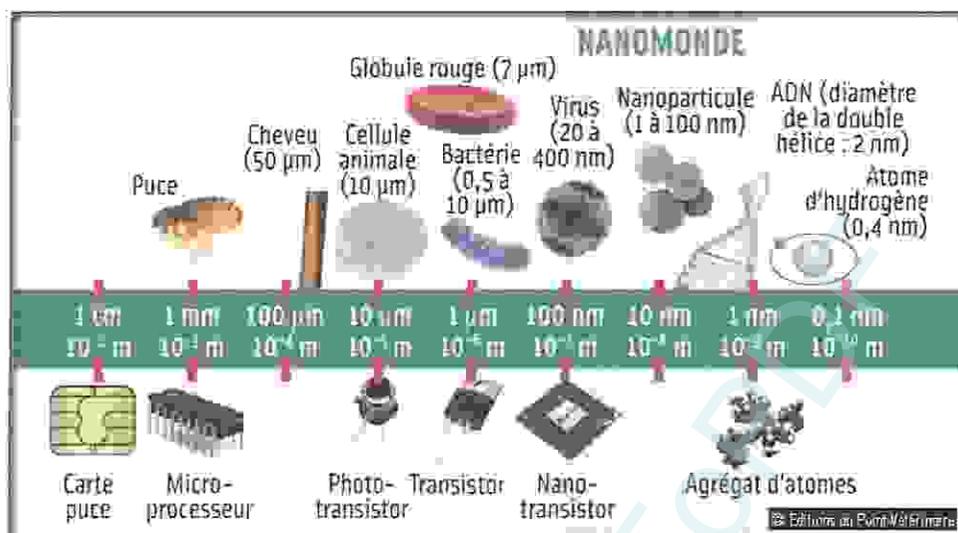


Figure 01 : Exemples de structures de nanoparticules [1].

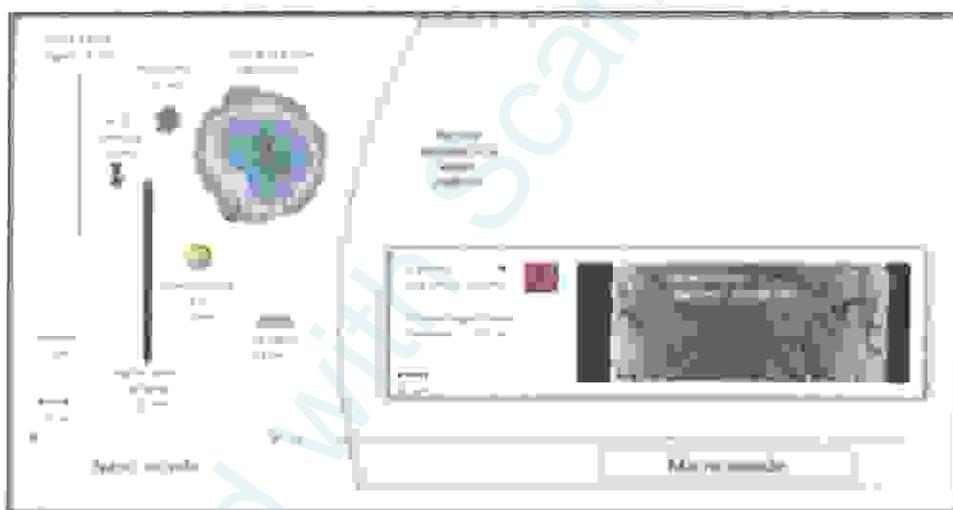


Figure 02 : Comparaison relative de la taille de certains nanomatériaux avec des composants du monde biologique. En vert, ce qui appartient au nanomonde (d'une taille inférieure à 100 nm), en orange, ce qui appartient au monde macroscopique (d'une taille supérieure à 100 nm) (Mérat-tagnard, 2008).

Les nanoparticules sont souvent de forme sphérique. D'un point de vue chimique, on distingue deux grandes catégories de nanoparticules (NPs), qui diffèrent par leur composition : les NPs organiques à base d'atomes de carbone, tel le noir de carbone, les NPs de polystyrène ou les nanomicelles et les NPs inorganiques de composition métallique (Zn, Fe, Cu), d'oxydes métalliques (CeO_2 , TiO_2 , ZnO , SiO_2) ou encore les points quantiques (Cd/Te, CdS, CdSe).

1.2. Les sources des nanoparticules :

Il existe en effet différentes sources de production des nanoparticules :

- Les sources naturelles (incendies, éruptions volcaniques,...).
- Les sources accidentelles (feux de bois, gaz d'échappement de véhicule, freinage,..).
- Les sources industrielles (nanoparticules manufacturées intentionnellement par l'homme) (Ophélie, 2008).

1.3. Propriétés innovantes des nanoparticules :

Les NPs sont des matériaux dont les propriétés physiques, optiques, chimiques, électriques, magnétiques ou thermiques sont différentes de celles de la même substance à l'échelle macroscopique (Anses, 2010).

Tableau 1 : Évolutions des propriétés des particules à l'échelle nanométrique (D'après Luther, 2004).

Propriétés	EXEMPLE
Catalytique	Efficacité catalytique élevée due au rapport surface/volume élevé
Électrique	Augmentation de la conductivité électrique des céramiques et des nano-composites magnétiques Augmentation de la résistance électrique des métaux.
Magnétique	Augmentation de la coercivité magnétique, comportement super paramagnétique.
Mécanique	Augmentation de la dureté et de la solidité des métaux et des alliages de la ductilité et de la superplasticité des céramiques.
Optique	Changement spectral de l'absorption optique et des propriétés fluorescentes, augmentation de l'efficacité quantique des cristaux semi-conducteurs.
Stérique	Augmentation de la sélectivité sphères creuses pour un transport spécifique de médicament et une distribution contrôlée
Biologique	Augmentation de la perméabilité vis-à-vis des barrières biologiques (membrane, barrière épithéliale,...) augmentation de la biocompatibilité.

1.4. Domaine d'utilisation :

Les avantages et applications que procurent les NPs sur le plan médical, environnemental et commercial intéressent les professionnels de la santé, les industriels et les consommateurs. Les NPs et nanomatériaux permettent en effet d'accroître les performances de nombreuses applications. Les performances particulièrement recherchées sont l'absorption des rayons UV,

la réduction de l'inflammabilité, l'amélioration des qualités textiles, l'effet antimicrobien, l'apport d'une fonction autonettoyante ou anti-adhésive de surface, l'augmentation de la dureté ou l'apport d'une fonction antiagglomérant ou fluidifiante (**Conseil des académies canadiennes and nanotechnologies, 2008**). Le **tableau 02** présente, pour différents secteurs d'activité économique, quelques exemples d'utilisation de NPs.

Tableau 02 : Exemples de propriétés recherchées par l'utilisation de nanoparticules dans différents secteurs d'activité économique (Mélanie, 2007).

Secteur d'activité	Utilisation
Agro-alimentaire	Revêtement imperméable, membranes pour le traitement de liquides alimentaire, marquages pour traçabilité.
Automobile	Revêtement auto lubrifiant, anti-rayure et anticorrosion pneu vert, pot catalytique, vitrage autonettoyant, hydrophobe, athermique.
Cosmétique	Anti-UV, anti-âge, antibactérien.
Agriculture	Meilleure absorption de pesticides, fertilisants et autres substances chimiques agricoles. Optimisation de la production animale par libération d'hormones de croissance et de vaccins sur demande.
Santé, pharmacie	• Délivrance ciblée de médicaments, réparation et implants.
Environnement	Dépollution de sites contaminés, traitement des eaux potable.
Électronique	Matériau isolant. Polissage de wafers et disques durs. Polymère nanostructure pour électronique souple.

1.5. Les risques potentiels des nanotechnologies :

1.5.1. Bases d'une réflexion scientifique :

Parmi les impacts potentiels des nanomatériaux sur le monde de demain, l'interaction avec le vivant constitue une interrogation majeure car les propriétés particulières aux nanoparticules, qui les rendent si intéressantes, peuvent potentiellement représenter un danger non négligeable pour les hommes et l'environnement en effet, si certaines de leurs caractéristiques sont prometteuses pour le traitement de maladies ou l'élaboration de systèmes à libération contrôlée, elles pourraient avoir des impacts inattendus dans d'autres circonstances. La petite taille des nanoparticules pourrait par exemple leur permettre de

pénétrer dans les tissus et passer la membrane cellulaire). Une fois dans la cellule, leurs propriétés catalytiques pourraient générer des espèces radicalaires et causer de sérieuses altérations dans l'ADN (ce qui constituerait un fâcheux effet secondaire de l'utilisation des crèmes solaires). Les nanoparticules sont également suspectées de pouvoir franchir la barrière hémato-encéphalique, or les conséquences de leur accumulation dans le cerveau ne sont pas encore connues. De plus, il existe un risque non négligeable de toxicité par inhalation tout particulièrement pour les personnes travaillant dans des industries fabriquant des nanoparticules. Le nez la première barrière aux particules malheureusement seules les plus grosses d'entre elles y sont arrêtées. Les nanoparticules ultrafines et les nanotubes de carbone pourraient donc s'accumuler dans les poumons et y provoquer des effets délétères comparables à ceux observés dans le cas de l'amiante. En ce qui concerne l'environnement, la libération incontrôlée de nanoparticules (ex : combustion des fiouls, ruissellement des nanoparticules utilisées dans les façades autonettoyantes) pourrait avoir de graves conséquences environnementales, certaines nanoparticules sont même envisagées pour des utilisations en dépollution par exemple pour le piégeage des halogénures, arsenic, etc. (Elliott and Zhang, 2001 ; Tratnyek and Johnson, 2006).

1.5.2. Les risques pour la santé humaine :

Un certain nombre de questions demeurent quant aux effets toxiques des NPs sur la santé. Ces questions sont motivées par l'augmentation du risque d'exposition de la population générale aux NPs. Les données toxicologiques actuelles sur les NPs demeurent encore insuffisantes. Cependant, plusieurs études démontrent que les NPs peuvent pénétrer dans l'organisme par les voies pulmonaires, cutanées ou intestinales (Hagens *et al.*, 2007) et avoir des effets toxiques systémiques (Chen *et al.*, 2006, Wang *et al.*, 2006a).

1.5.2.1. Voies d'entrée des NPs dans l'organisme :

Les NPs peuvent entrer au contact direct de l'organisme par trois voies principales : la voie respiratoire par inhalation, la voie digestive par ingestion et la voie cutanée par contact dermique (Figure 03) (Hagens *et al.*, 2007).

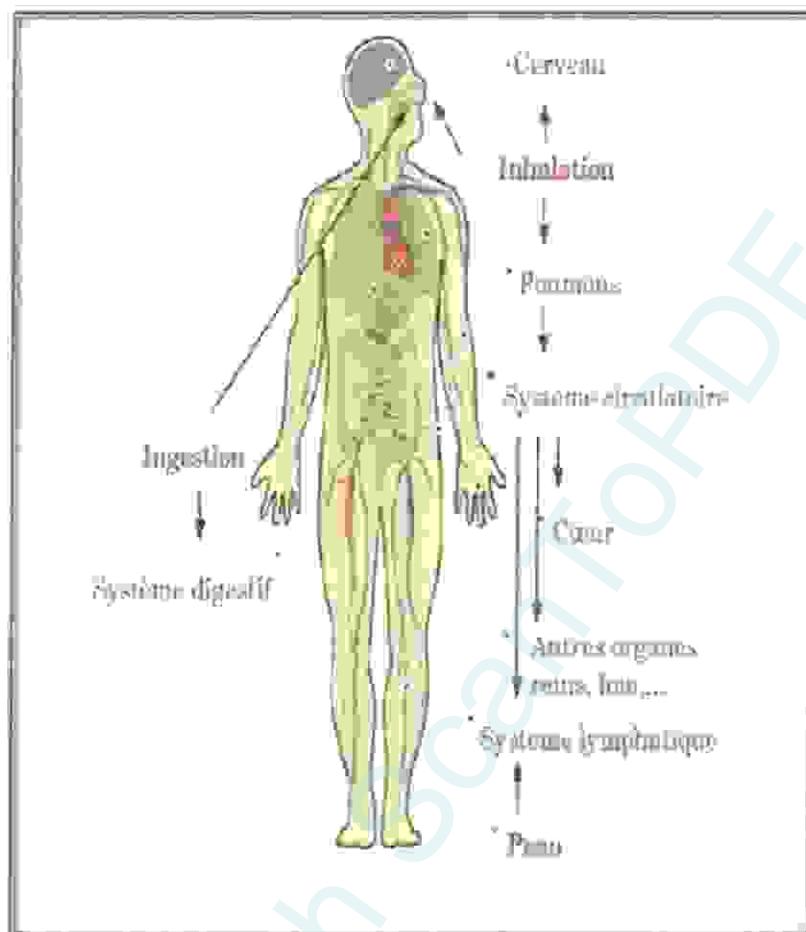


Figure 03 : Voies d'exposition de l'homme aux nanoparticules (en rouge) et devenir dans le corps humain (bleu) (d'après Buzea et al., 2007).

➤ **Exposition par la voie respiratoire :**

Le dépôt des NPs dans l'appareil respiratoire se fait essentiellement par diffusion (Witschger and Fabries, 2005). La localisation de ce dépôt dépend de la taille de la forme et de l'état d'agglomération des particules. Ainsi, des particules micrométriques et des agglomérats de NPs inhalées se déposent plus facilement dans les voies aériennes supérieures (extra thoraciques : fosses nasales, cavité orale, pharynx, larynx), tandis que des particules de taille nanométrique se déposent plus facilement dans les voies aériennes inférieures (intra thoraciques : trachée, bronches, bronchioles) et atteignent les régions alvéolaires.

L'absorption des NPs inhalées via le système sanguin ou lymphatique a été démontrée dans plusieurs études réalisées chez l'homme et l'animal. Ainsi, l'instillation intra trachéale d'un aérosol de NPs d'albumine (marquées radio activement au technétium-99) à des hamsters, conduit à une diffusion rapide de ces NPs dans la circulation sanguine puis dans tout l'organisme. Après 5 minutes, la fraction sanguine contient 2,88 % de la radioactivité des NPs

non-altérées et de nombreux organes distants sont marqués radio-activement (foie, cœur, rate, reins, encéphale) (Nemmar *et al.*, 2001).

➤ Exposition par la voie digestive

La voie digestive représente une importante voie d'entrée des NPs dans l'organisme via l'ingestion de produits alimentaires, d'eau et de médicaments contenant éventuellement des NPs. Lors de l'inhalation, une partie des NPs remontant vers le carrefour aérodigestif, par un mouvement mucillaire, peut être ingérée. A ce jour pourtant, peu d'études se sont intéressées à cette voie et les quantités de NPs retrouvées dans l'organisme après ingestion portent à débat. L'absorption et la translocation se produit via la voie lymphatique qui permet à 6 - 7 % des NPs de 50 nm de rejoindre les organes périphériques (foie, rate, moelle osseuse, reins) (Jani *et al.*, 1989). La charge apparaît également être un élément important dans l'absorption des particules (Desai *et al.*, 1996). Ainsi, des particules chargées positivement sont absorbées plus facilement que des particules non chargées ou chargées négativement (Florence, 1997).

➤ Exposition par la voie cutanée

Du fait de leur taille réduite, les nanoparticules pourraient avoir plus de facilité à passer la barrière cutanée pour atteindre le derme qui est riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques, en nerfs sensitifs et en cellules dendritiques. Cependant la plupart des études ne montrent pas (Cross *et al.*, 2007, Lademann *et al.*, 1999), ou ne montrent qu'une faible pénétration de nanoparticules dans l'épiderme mais sans qu'il y ait passage dans le derme lorsque celui-ci est intact (Alvarez-Román *et al.*, 2004). Ainsi l'épiderme semble être une barrière efficace pour empêcher la pénétration des nanoparticules mais à condition que celui-ci serait imputée à des lésé. En effet quelques études mettent en évidence une pénétration dans le derme : celle-ci serait imputée à des lésions cutanée ou à une ouverture des follicules pileux et non à une diffusion dans l'épiderme (Mavon *et al.*, 2007, Tinkle *et al.*, 2003).

Le passage ou non des nanoparticules par la peau n'apparaît donc pas clair et est probablement dépendant de leurs caractéristiques. De plus, il reste aussi à déterminer, en cas de pénétration, si les nanoparticules restent localisées dans le derme ou si ils transloquent par le sang ou encore les nerfs sensitifs (Angélique, 2008). Ces études suggèrent que le franchissement de la barrière dermique pourrait être régi par la taille et la charge des particules, mais aussi par la présence de lésions cutanées.

1.5.3. Risque des nanoparticules sur l'environnement :

Actuellement, la recherche est plus focalisée sur les effets des nanoparticules sur la santé humaine que sur les écosystèmes. Pour évaluer leur toxicité sur des organismes vivants, les chercheurs ont mis en contact des poissons, des batraciens et des bactéries avec des nanoparticules. Par exemple, les chercheurs ont observés des effets toxiques sur les microorganismes (bactéries) lorsque les expériences ont été faites sans milieux nutritifs. Les effets toxiques provoqués par les nanoparticules sont dus à la production d'espèces très oxydantes à base d'oxygène. Cette propriété des nanoparticules est intéressante pour dépolluer les eaux car les espèces produites oxydent les molécules dangereuses et tuent les virus et les bactéries présentes dans l'eau.

Il y a aussi des études en cours sur la capacité des nanoparticules à générer des changements sur l'ADN (génotoxicité) et sur leurs impacts sur la biodiversité au sein des écosystèmes qui à long terme pourront atteindre l'homme via la chaîne trophique.

Dans l'industrie agroalimentaire, beaucoup de nanoparticules sont introduites dans les produits et les emballages. Les dernières recherches ont démontré que cette industrie est une source potentielle de risques pour l'environnement. Les nanoparticules plus utilisées dans les emballages et les produits alimentaires sont l'argent, l'oxyde de zinc et le dioxyde de titane lesquelles ont des propriétés. La majorité des études l'ont utilisée pour réaliser les tests sur la toxicité. Ces études ont prouvé sa toxicité sur certaines espèces comme les truites, puces de l'eau et les algues. Le nano oxyde de zinc est aussi dangereux pour ces espèces qui symbolisent les indicateurs écologiques.

Le risque majeur qui peut entraîner une utilisation excessive des nanoparticules antibactériennes est la disparition des espèces qui sont bénéfiques pour l'environnement, telles que les bactéries qui nitrifient et dénitrifient l'eau et les bactéries qui fixent le nitrogène des plantes. Cela pourrait occasionner une altération de l'écosystème (Figure 04) (Joanna *et al.*, 2009).

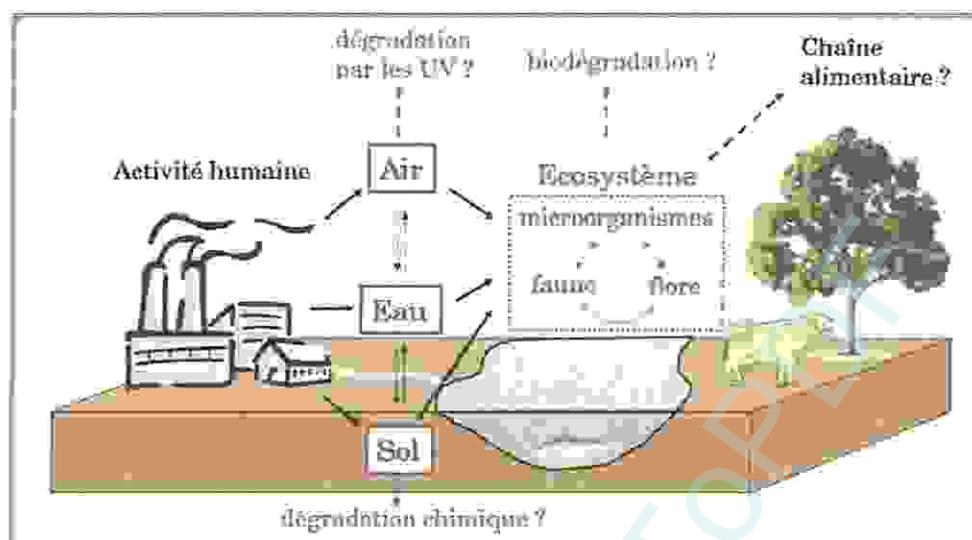


Figure 04 : Contamination et devenir des nanoparticules dans l'environnement. En rouge sont indiquées les voies de contaminations primaires et en bleu les voies de dégradation hypothétiques. (Angélique, 2008).

1.5.4 Toxicité générale des NPs :

L'inhalation de ces particules fines ($<2.5 \mu\text{m}$) et ultrafines ($<100 \text{ nm}$) provoque un stress oxydant pulmonaire et une réponse inflammatoire à la base de l'exacerbation de troubles respiratoires et cardiaques préexistants (Stern and McNeil, 2008). Les mécanismes majeurs de cette toxicité comprennent l'activation de facteurs pro-inflammatoires et la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Des études récentes indiquent que les particules ultrafines peuvent être transférées dans la circulation et directement transportées à la vascularisation du cœur, où elles peuvent provoquer des arythmies cardiaques ainsi qu'une diminution de la contractilité et du débit coronarien.

De nombreux indices prétendent que les nanoparticules peuvent pénétrer dans l'organisme par les voies pulmonaires, cutanées ou intestinales et ce, malgré la présence de barrières biologiques. rapidement après l'entrée des nanoparticules dans l'organisme, une toxicité locale peut s'exprimer, et contrairement aux particules de taille micrométriques, les NPs sont distribuées de façon systémique vers des organes éloignés, où elles peuvent exercer une toxicité (en particulier pour les reins, le foie et la rate) (Simkhovich *et al.*, 2008).

1.5.5. Étude du mécanisme de génotoxicité :

Les NPs d'oxyde de titane, oxyde de zinc, oxyde d'aluminium sont également utilisées dans d'autres domaines industriels afin de dépolluer l'eau et l'air mais également pour créer des surfaces autonettoyantes (augmentation de la durée entre deux nettoyages d'une surface), en raison de leurs propriétés photocatalytiques. Ces propriétés photocatalytiques entraînent la formation d'espèces radicalaires dont le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$ très réactif et aussi de l'oxygène singlet, une espèce réactive de l'oxygène non radicalaire. Le radical hydroxyle fortement réactif est capable de réagir efficacement avec le 2-désoxyribose de l'ADN pour engendrer des cassures simple brin et avec les bases nucléiques de l'ADN et de produire ainsi des bases modifiées. Une des lésions prédominantes engendrées par le radical hydroxyle dans l'organisme, correspond à la 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxoG) par oxydation de la guanine.

Les nanoparticules peuvent d'abord relever de la réglementation relative aux agents chimiques : il s'agit de la réglementation sur les substances dites « existantes » et les substances dites « nouvelles », qui sera bientôt remplacé par le projet de règlement « REACH » concernant L'Enregistrement, L'Évaluation, L'Autorisation Et Restriction Des Substances Chimiques.

2. Le règlement REACH :

Le règlement REACH est entré en vigueur le 1^{er} juin 2007. REACH est l'abréviation de Registration, Evaluation and Autorisation of Chemical Substances (Enregistrement, Évaluation et Autorisation de Substances Chimiques) [2].

REACH demande à l'industrie de fournir aux utilisations toutes les informations sur les risques que présentent les substances chimiques qu'elle fabrique et distribue, de manière à améliorer les décisions quant à leurs utilisations. Pour les substances mise sur le marché et représente ou moins une tonne par an, les données se rapportant à la toxicité doivent être enregistrées de l'Agence Européenne des Produit Chimiques (EACH).

REACH a de ce fait provoqué une demande urgente de tests de toxicité pour un grand nombre de substances chimiques. Environ 100 000 substances chimiques pourraient être enregistrées dans le cadre de REACH entre 2010 et 2018, nécessitant des issues des tests de toxicité [3].

Le règlement **REACH** vise à assurer un niveau élevé de protection de la santé humaine et de l'environnement contre les effets dangereux des produits chimiques. Il incarne l'équilibre, défini dans le cadre du processus législatif, entre la nécessité de générer de nouvelles informations sur les propriétés dangereuses de ces produits au moyen d'essais sur les animaux et la volonté d'éviter de tels essais des lors qu'ils sont inutiles. Aussi, le règlement stipule-t-il que les essais sur les animaux vertébrés ne doivent être réalisés que s'il n'existe aucune autre solution [4].

Sur la question des nanoparticules, l'Union européenne, dans le prolongement de **REACH**, devrait très prochainement s'engager dans une démarche de réglementation sur les nanomatériaux. Elle envisage déjà pour 2012-2013 une obligation d'étiquetage pour les cosmétiques contenant des nanoparticules (Picot, 2012).

Le principe objectif de nouveau programme est d'assurer un plus haut niveau de protection de la santé humaine et de l'environnement tout en permettant un fonctionnement efficace des marchés internes de l'innovation et de la compétition de l'industrie chimique (Ostiguy et al., 1980).

Un des objectifs fondamentaux de **REACH** est de promouvoir des méthodes alternatives pour l'évaluation des risques des substances chimiques et de n'utiliser les tests sur les animaux qu'en dernier recours [3].

2.1. Le principe du règlement REACH :

- ✦ **Enregistrement**, de toutes les substances produites ou importées à plus d'une tonne par an.
- ✦ **Évaluation**, des propositions d'essais, des dossiers et des substances par les États-membres ou l'agence.
- ✦ **Autorisation**, pour les substances extrêmement préoccupantes ; et restriction, pour gérer les risques liés à d'autres substances.
- ✦ **Restriction** d'usages des produits chimiques (Jérémy, 2010).

2.2. Les méthodes alternatives :

Le recours à des méthodes alternatives en expérimentation animale est aujourd'hui une nécessité, eu égard notamment aux exigences du règlement **REACH** qui requiert des résultats rapides et fiables sur les propriétés toxiques et écotoxiques des substances chimiques. De plus,

elles sont nécessaires pour répondre aux préoccupations sociétales autour d'une démarche éthique en expérimentation animale. Le règlement REACH et la directive sur la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques ne visant pas la suppression des essais, les méthodes alternatives doivent permettre de satisfaire un ou plusieurs principes des « 3R » : substitution (remplacer les modèles animaux à chaque fois possible), réduction (réduire le nombre d'animaux en expérimentation), raffinement (optimiser la méthodologie appliquée aux animaux).

2.2.1. Les « 3R » : principes éthiques de l'expérimentation animale :

La règle des « 3R », élaborée en 1959 par Russell et Burch, constitue le fondement de la démarche éthique liée à l'expérimentation animale en Europe et en Amérique du Nord. Les bonnes pratiques en expérimentation animale s'appuie sur :

- **Reduce** : réduire le nombre d'animaux en expérimentation.
- **Refine** : optimiser la méthodologie appliquée aux animaux, notamment les conditions de transport, élevage, hébergement, utilisation (limiter ou éviter la douleur et la souffrance subie par les animaux, notamment en fixant des points limites - critères d'interruption ou *end points*).
- **Replace** : remplacer les modèles animaux à chaque fois que possible par des méthodes *in vitro* (étude sur cellules humaines ou animales) ou *in silico* (modélisation mathématique avec l'aide de l'informatique) (Aurelie, 2011).

Les principes éthiques structurés par les « 3R » servent de base à la Directive 2010/63/UE du 22 septembre 2010 sur la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques. Applicable au 1^{er} janvier 2013, elle exige, pour une procédure donnée, que soient choisies en priorité les méthodes alternatives reconnues par l'UE, si elles existent. Le règlement REACH, en vigueur depuis le 1^{er} juin 2007, affiche la nécessité de « promouvoir le développement de méthodes alternatives » dans la procédure instituant l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et la restriction des substances chimiques.

Ce type de méthode, dont le but est de prédire les effets des substances est un outil précieux pour faire le lien entre les informations collectées *in vitro* ou *in vivo* et le devenir du composé chimique dans l'organisme (Aurelie, 2011).

2.3. Qu'appelle-t-on méthodes alternatives ?

Les méthodes alternatives, terminologie inventée en 1978 par le physiologiste David Smith, regroupent les méthodes permettant de satisfaire un ou plusieurs principes des 3R.

2.3.1. Les méthodes de substitution :

In vivo (prélèvements de tissus d'animaux vivants), *in vitro* (modèles cellulaires), *in silico* (modèles biomathématiques utilisant des bases de données issues d'expérimentation *in vivo* ou *in vitro*), chimie analytique, regroupent de substances et méthodes de références croisées (lorsque certaines substances ont des points communs suffisants avec des substances déjà connues), cellules souches, bio-artificiels, cultures organotypiques (modèles construits à partir de fragments de tissus ou d'organes).

2.3.2. Les méthodes de réduction :

Méthodes statistiques (par lesquels on obtient plus d'informations à partir d'un seul protocole), utilisation d'espèces pour lesquelles les connaissances scientifiques établissent qu'elles sont moins sensibles à la contrainte que d'autres, contrôle de la variabilité de la réponse (par les paramètres environnementaux et le statut sanitaire et génétique des animaux).

2.3.3. Les méthodes de raffinement :

Diminution de la douleur (examen clinique), imagerie du petit animale *in vivo* (ultrasons bioluminescence, scintigraphie, tomographie) télémétrie (enregistrement de paramètres physiologiques en continu).

2.4. Les méthodes *in silico* :

Les méthodes *in silico* désignent les modèles biomathématiques utilisant des bases de données issues des expérimentations *in vitro* et *in vivo*. La bioinformatique permet de disposer de modèles descriptifs du vivant à différentes échelles, de l'organisme entier à la cellule. Pour la toxicité d'une substance chimique, l'approche numérique peut rendre compte des mécanismes biologiques complexes impliqués et des effets (observés dans le cadre d'une relation dose absorbée /réponse de l'organisme). L'efficacité des modèles biomathématiques comme méthodes de substitution repose sur la richesse, la qualité et la pertinence des données sur lesquelles ils se fondent mais certaines méthodes couplées pourraient fournir une prédiction de qualité équivalente à l'expérimentation *in vivo* (Aurelie, 2011).

L'union Européenne finance la recherche pour le développement des méthodes *in silico* parce qu'elles présentent des avantages potentiellement immenses [3].

2.4.1. Les avantages des tests sur les animaux :

2.4.1.1. Réduire les tests sur les animaux :

Pour tester les substances chimiques, les méthodes *in silico* utilisent les résultats des tests *in vivo* et *in vitro* effectués en laboratoire. Elles permettent donc aux scientifiques de limiter la répétition de tests en laboratoire sur les animaux, en les remplaçant par la modélisation sur un ordinateur. Cela diminue la souffrance des animaux ainsi que la quantité de déchets chimiques occasionnés par des tests supplémentaires en laboratoire [3].

2.4.1.2. Réduire les coûts et les délais :

Pour les fabricants industriels, les importateurs et les utilisateurs de substances chimiques, les tests *in silico* permettent d'éviter les coûts et les délais liés aux expérimentations animales.

2.4.1.3. Permettre de tester un grand nombre de substances chimiques :

Pour les régulateurs et les citoyens, les méthodes *in silico* permettent de réduire les coûts et d'accroître la faisabilité des tests portant sur la grande quantité de substances chimiques actuellement utilisées [3].

2.4.1.4. Augmenter la qualité des informations :

Les modèles par ordinateur ont la capacité d'intégrer simultanément les recherches *in vivo* et *in vitro* et, à partir d'études de laboratoires, de produire une compréhension plus sophistiquée et plus fiable sur la façon dont les substances chimiques pourraient affecter dans le futur les humains et l'environnement. Ceci pourrait améliorer l'intelligence scientifique en matière de planification des substances chimiques, et permettre de réduire le nombre d'effets toxiques non anticipés [3].

Les méthodes *in silico* évaluent la probabilité d'une manière utile pour les régulateurs évaluant le risque et l'incertitude. Les méthodes *in silico* peuvent adresser certains risques ou effets redoutés, en particulier ceux pour lesquels les tests sur les animaux ne sont pas entièrement acceptés.

Les tests *in silico* se basent sur des modèles de calcul pour évaluer la sécurité des substances chimiques telles que les nanomatériaux.

CHAPTER II

Produced with Scantopdf

A l'échelle cellulaire et moléculaire, les nanoparticules sont réactives en vers l'environnement cellulaire. Les conséquences de cette réactivité sont la facilité des NPs à s'internaliser dans l'environnement cellulaire et la formation d'espèces radicalaires de l'oxygène (Igor, 2011).

1. Les acides nucléiques :

Les acides nucléiques sont des macromolécules, c'est-à-dire de grosses molécules relativement complexes. Ils entrent dans la famille des biomolécules puisqu'ils sont d'une très grande importance dans le règne de la vie, « bio » signifiant vie en grec. Les acides nucléiques sont des polymères dont l'unité de base, ou monomère, est le nucléotide. Ces nucléotides sont liés les uns aux autres par des liaisons phosphodiester [5].

1.1. Les différents types d'acide nucléique :

Il existe deux types d'acides nucléiques : l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN). L'ADN contient l'information génétique. L'ARN quant à lui est la copie de l'ADN (souvent en un seul brin alors que l'ADN est une double hélice = deux brins). La différence entre l'ADN et l'ARN est que l'ADN contient le génome, tout ce qui est nécessaire à la formation des protéines, mais ne peut sortir du noyau, donc l'ARN copie l'information génétique de l'ADN et sort du noyau par les pores nucléaires pour fournir l'information et permettre ainsi la synthèse directe des protéines (Figure 05) (Bitam, 2008).

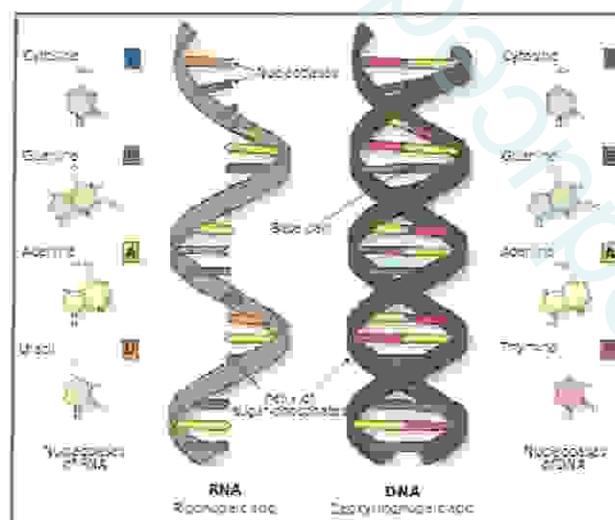


Figure 05 : L'ARN et l'ADN, des acides nucléiques existant dans la nature [6].

1.2. La localisation :

On trouve des acides nucléiques (ADN ou ARN) dans les cellules de presque chaque organisme. Toute cellule eucaryote ou procaryote, soit les cellules animales, les cellules végétales, les bactéries, les mycètes (ou champignon) et même les mitochondries et les chloroplastes, contiennent les deux types d'acide nucléique. Toutefois, les virus peuvent contenir de l'ADN ou de l'ARN, mais jamais les deux en même temps.

L'ADN se trouve dans le noyau cellulaire chez les eucaryotes. Il s'associe à des protéines comme des histones. Cet agencement d'ADN et de protéines forme la chromatine que l'on retrouve sous forme de chromosomes linéaires chez les eucaryotes (bien visibles durant la mitose) et sous forme de chromosome hélicoïdal unique chez les procaryotes. Pour sa part, l'ARN se retrouve autant au niveau du noyau qu'au niveau du cytosol (Samia, 2008).

1.3. La Composition :

Les acides nucléiques sont des amas de nucléotides. Les nucléotides formant l'ADN s'appellent désoxyribo-nucléotides tandis que ceux formant l'ARN s'appellent ribonucléotides. La composition de ces nucléotides varie selon qu'ils sont dans l'ADN ou dans l'ARN. Toutefois, qu'ils se retrouvent dans l'un ou dans l'autre de ces acides nucléiques, les nucléotides possèdent toujours trois substances fondamentales : Un sucre, un groupe phosphate et une base azotée (Samia, 2008).

1.4. Les Liaisons :

Pour soutenir de telles molécules et les maintenir « en un morceau », des liaisons chimiques sont nécessaires. Ces liaisons doivent être fortes pour éviter les bris et pour rester stable, mais doivent également être faibles dans une certaine mesure où ces acides nucléiques doivent constamment être manipulés par diverses protéines, entre autre des enzymes, dans des processus comme la répllication, la transcription ou la traduction.

1.4.1. Les Liaisons phosphodiester :

Dans les acides nucléiques, les différents nucléotides sont placés bout à bout et liés les uns aux autres par des liens 3'-5' (prononcé 3 prime - 5 prime) phosphodiester. Ces chiffres donnent le sens de la liaison ; le phosphate se lie au carbone 3 du sucre du premier nucléotide et au carbone 5 du sucre du nucléotide suivant. Les liaisons phosphodiester sont des liens covalents, c'est-à-dire qu'il y a partage d'électrons entre les atomes. Le phosphate est donc le lien (ou le pont) entre chaque sucre.

1.4.2. Les Liaisons covalentes :

Les liaisons phosphodiester sont des liaisons covalentes. (On peut dire que toutes les liaisons phosphodiester sont des liaisons covalentes, mais toutes les liaisons covalentes ne sont pas des liaisons phosphodiester). Mis à part, les liaisons hydrogène, que l'on nomme souvent interactions hydrogène parce qu'en fait, il n'y a pas « liaison » proprement dit, toute autre liaison présente dans les acides nucléiques sont des liaisons covalentes.

1.4.3. Les Liaisons hydrogène :

Dans le cas de l'ADN, les deux brins (les deux cordes) sont disposés de telle sorte que toutes les bases azotées se retrouvent au centre de la structure. Cette structure appelée double hélice est maintenue par des liaisons hydrogène (liens faibles, qui retiennent peu) qui se forment entre les bases azotées complémentaires, l'adénine s'associant toujours avec la thymine (dans l'ADN) ou l'uracile (dans l'ARN) à l'aide de deux liens hydrogène et la guanine s'associant toujours avec la cytosine à l'aide de trois liens hydrogène (Bitam, 2008).

2. L'acide désoxyribonucléique :

L'acide désoxyribonucléique ou ADN est une structure complexe caractéristique de toute cellule, normale ou cancéreuse. Il contient l'information génétique pour la fabrication de toutes les molécules nécessaires à l'activité de chaque cellule : protéines, enzymes, hormones, facteurs de croissance, etc. La majeure partie de l'ADN est contenue dans le noyau de la cellule où elle s'individualise en chromosomes lors de chaque division cellulaire (ou mitose) (Figure 06).

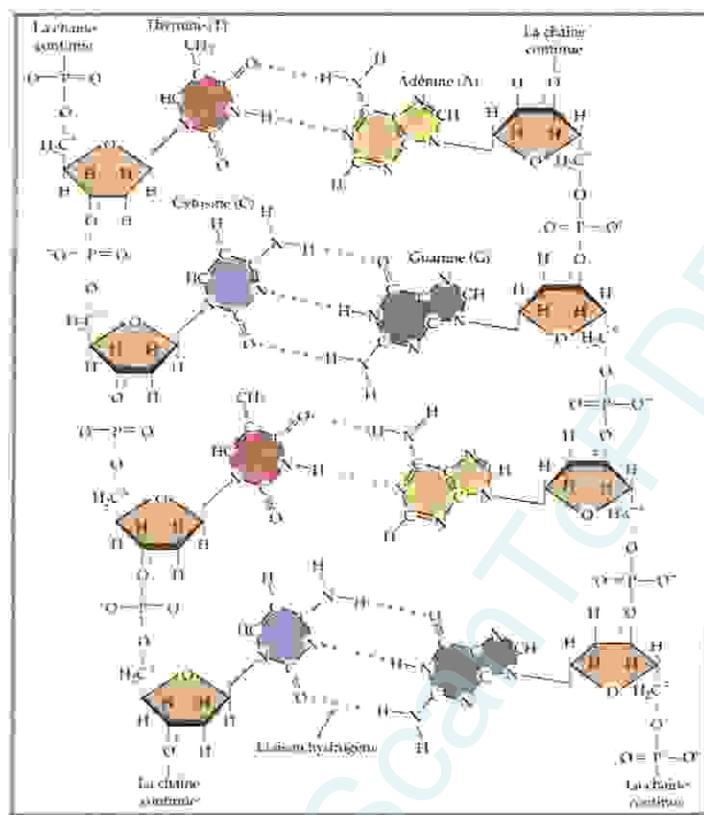


Figure 06 : La structure de l'ADN [6].

L'ADN est constitué de l'enchaînement linéaire de bases azotées liées à un sucre, le désoxyribose. Ces complexes base azotée-sucre, appelés nucléosides, sont liés entre eux par des molécules d'acide phosphorique. C'est la séquence des bases azotées qui constitue l'information génétique de l'ADN. Quatre bases différentes seulement y sont rencontrées. L'information que porte ainsi l'ADN d'une cellule de mammifère peut être comparée à une phrase faite de 3 milliards de lettres venant d'un alphabet qui n'en comporte que quatre. Deux chaînes (brins) orientées en sens inverse sont associées l'une à l'autre grâce à l'affinité qui existe entre les bases azotées prises deux à deux, les deux chaînes portent ainsi la même information. Elles sont associées en une structure hélicoïdale popularisée sous le nom de « double hélice ». L'ADN sert de mémoire et de matrice pour la fabrication (synthèse) des protéines (Samia, 2008).

2.1. Les Bases azotées :

Quatre bases ont été identifiées : La thymine (T) et la cytosine (C) sont de la famille des pyrimidines. L'adénine (A) et la guanine (G) sont de la famille des purines. Un nucléotide est formé par un groupe de phosphate, du désoxyribose et une base azotée. Par conséquent il existe quatre nucléotides différents. Un « brin » d'ADN est formé par la répétition ordonnée

de ces nucléotides. Les bases azotées sont complémentaires deux à deux : l'adénine s'associant avec la thymine et la guanine avec la cytosine. Le second brin d'ADN est donc complémentaire au premier et les bases azotées complémentaires sont reliées entre elles grâce à des liaisons hydrogène [7].

2.2. Le rôle de l'ADN :

L'ADN constitue l'information génétique et détermine l'identité biologique de l'organisme (plante, grenouille ou humain). La préservation de cette information génétique se fait grâce à une duplication des molécules d'ADN avant la mitose (création de deux cellules filles identiques) (Bitam, 2008).

2.3. Les Dommages causés aux bases azotées :

L'ADN peut être endommagé ou détruit par des facteurs internes ou externes (médicaments, Rayonnement UV-visible...), pouvant induire des mutations génétiques voire la mort cellulaire. Parmi les principales lésions de l'ADN figurent celles résultant de son oxydation ; qui peut se produire localement mais aussi à distance : par transfert de charge, de proton et d'énergie le long de la double hélice selon des mécanismes. La molécule d'ADN constitue une cible cellulaire importante pour les attaques radicalaires. Les modifications observées après action du radical OH sont très nombreuses : conversion des résidus thymines en thymine glycol et en 5-hydroxyméthyluracile, de la guanine en 8-hydroxyguanine, oxydation du déoxyribose entraînant une coupure des brins. Ces dénaturations peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome (Samia, 2008).

2.4. La mutation (génétique) :

Le terme mutation est utilisé en génétique pour désigner une modification irréversible de la séquence d'un génome (ADN ou ARN). Les mutations peuvent être dues à des erreurs de copie du matériel génétique au cours de la division cellulaire, ou à l'exposition à des agents mutagènes (radiations, agents chimiques, virus). Une très grande partie des erreurs commises au cours de la réplication du génome sont corrigées immédiatement par des mécanismes complexes et efficaces de réparation de l'ADN, et seule une faible part de ces erreurs deviennent des mutations transmises aux cellules-filles.

Les mutations expliquent l'existence d'une variabilité entre les gènes. Les mutations qui sont le moins favorables (délétères) à la survie de l'individu qui les porte sont éliminées par le jeu

de la sélection naturelle, alors que les mutations avantageuses tendent à s'accumuler. La plupart des mutations sont dites neutres, elles n'influencent pas la valeur sélective et peuvent se fixer ou disparaître par le jeu de la dérive génétique. Les mutations spontanées, généralement rares et aléatoires, constituent donc la principale source de diversité génétique, moteur de l'évolution. Les causes des mutations spontanées sont inconnues.

2.4.1. Agents mutagènes :

Dans certaines circonstances, le taux de mutations peut être augmenté considérablement par des facteurs physiques ou chimiques, appelés agents mutagènes. Les ondes électromagnétiques (Rayon-X, Rayon Gamma, les rayons ultraviolets). Des substances chimiques interagissant avec l'ADN (ou éventuellement avec l'ARN) tels que les nanoparticules, dérivés de benzène, solvants, pesticides, etc. Une modification du système de réparation de l'ADN, qui cesse alors de corriger les erreurs de réplifications.

2.4.2. La Transmission des mutations :

Si une mutation affecte les cellules germinales, elle est transmise aux descendants de l'individu mutant. Dans certains cas, cette mutation peut procurer un avantage sélectif ou au contraire être délétère, voire létale. C'est la base du processus de l'évolution. Il est cependant admis que la plupart des mutations interviennent entre les gènes, dans les introns, ou à des endroits où leur effet est minime (mutations synonymes) ; la plupart des mutations sont donc probablement neutres, et ne sont conservées (ou éliminées) que par hasard (dérive génétique). En revanche, comme c'est le cas pour la plupart des mutations accidentelles (provoquées par irradiation ou substances chimiques), si elle n'affecte que des cellules somatiques, la mutation ne se transmet pas et n'affectera donc que le sujet l'ayant subie directement. Si les cellules se divisent activement, il y a possibilité de création d'une tumeur pouvant évoluer vers un cancer, à l'opposé, s'il n'y a pas de division l'effet est négligeable. (Bitam, 2008).

2.4.3. Les différents types de mutation :

Les mutations peuvent être classées selon leurs modalités de modification du gène :

‡ Les mutations faux-sens :

Cette mutation ponctuelle se traduit par le changement d'un nucléotide par un autre. Dans certains cas, cette modification de nucléotide entraîne une modification de l'acide aminé codé. Le changement d'un acide aminé peut avoir ou non une répercussion en terme de fonction de la protéine produite par le gène, dans le cas d'un gène codant, ou d'une modification d'affinité

pour un facteur de transcription, dans le cas d'une zone promotrice de l'ADN. On parle de mutation de transition (transition mutation) lorsqu'il y a substitution d'une base purique par une autre base purique (ou d'une base pyrimidique par une autre base pyrimidique). Au contraire une mutation de transversion (transversion mutation) est une mutation causée par la substitution d'une base purique par une base pyrimidique (ou d'une base pyrimidique par une base purique).

⊕ *Les mutations non-sens :*

Le changement d'un nucléotide provoque le remplacement d'un codon spécifiant un acide aminé par un codon stop. Cela entraîne la production d'une protéine tronquée.

⊕ *Les mutations silencieuses :*

Le changement d'un nucléotide mais le nouveau triplet code le même acide aminé que le triplet original, donc cette mutation n'a aucune conséquence. Insertions et délétions.

⊕ *Les mutations décalantes :*

Une addition ou une délétion de nucléotides non multiple de 3 provoquera un changement de cadre de lecture. Au moment de la traduction, cela générera le plus souvent une protéine tronquée par l'apparition d'un codon-stop prématuré. Elles peuvent également être classées selon leurs conséquences phénotypiques. La plupart des mutations ont de plus ou moins importantes conséquences phénotypiques (certaines d'entre elles peuvent avoir des conséquences graves comme le cancer ou des maladies génétiques, car la modification d'un seul acide aminé dans la chaîne constituant une protéine peut modifier complètement sa structure spatiale, qui conditionne son fonctionnement). Les mutations neutres ne modifient pas le fonctionnement de la protéine et n'ont pas de conséquence phénotypique macroscopique ; les mutations silencieuses ou muettes n'entraînent aucun changement dans la séquence d'acides aminés, ce qui est dû aux nombreuses redondances dans le code génétique. En effet, la troisième base d'un codon n'est en général pas codante (de fait, plusieurs codons différents codent le même acide aminé).

2.5. Les sites réactifs de l'ADN :

Les métabolites réactifs produits lors de l'activation d'un cancérigène peuvent réagir à plusieurs sites de l'ADN (**figure 07**). Les deux sites les plus souvent impliqués lors de l'alkylation de l'ADN par des métabolites électrophiles sont les positions N7 et O10 de la guanine. D'autres sites possibles sont la position N5 de la guanine ainsi que certaines positions de l'adénine (N1-N3-N7), de la thymidine (N3 et O2-4), de la cytosine (N3 et O2) et

des atomes d'oxygène du lien phosphodiester (Cloutier, 2001). La guanine $C_5H_5N_5O$ est une base purine, la plus facilement oxydable dans l'ADN.

L'oxydation de la guanine en 8-hydroxyguanine (8-oxoGUA) entraîne une coupure des brins et l'apparition du Cancer (Elle a été déjà identifiée comme une cible des carcinogène et récepteur des médicaments anticancéreux). (Bitam, 2008).

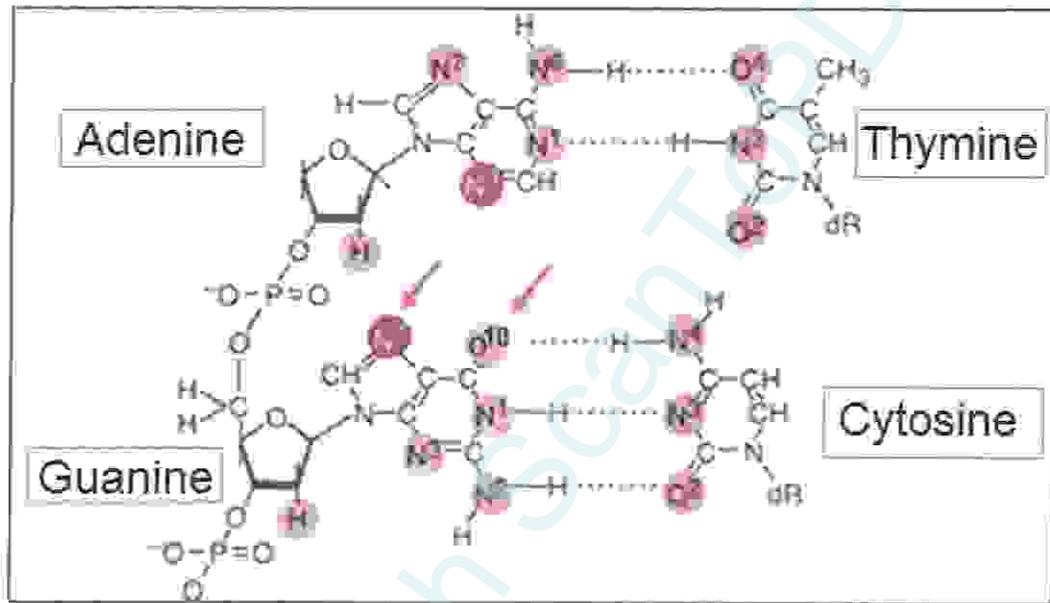


Figure 07 : Les sites nucléophiles de l'ADN les plus réactifs aux agents alkylants (Bitam, 2008).

(En rouge, ce sont les deux sites les plus nucléophiles et en rose, ce sont d'autres sites nucléophiles possibles pour une alkylation).

2.6. L'effet mutagène

Les cancérigènes chimiques se lient à l'ADN pour former deux types d'adduits, les adduits stables qui restent fixés à l'ADN à moins d'être pris en charge par les systèmes de réparation de l'ADN, et les adduits dépurinants qui sont relâchés par déstabilisation de la liaison glycosyl. Les adduits stables sont formés sur les positions N6 de l'adénine ou N2 de la guanine, tandis que les adduits dépurinants sont obtenus par les liaisons avec les positions N3 ou N7 de l'adénine et N7 et parfois C8 de la guanine. La perte de la guanine par dépurination mène à la formation de sites apurinique ou abasiques qui peuvent générer des mutations, ainsi que les erreurs produites lors de leur réparation. (Bitam, 2008).

CHAPTER III

Produced with Scantopdf

1. Matériel :

1.1 Choix de substances à tester :

Nous avons choisi deux ingrédients de médicament, de cosmétiques, des additifs alimentaires. La substance a été sélectionnée sur deux critères : leur présence persistante dans notre environnement proche (alimentation, cosmétiques....) et les risques mutagènes et/ou cancérigènes soupçonnés, principalement d'après des études réalisées (*in vivo* et *in vitro*). Cette application nous permettra de prédire le potentiel de génotoxicité, de mutagénicité et de cancérogénicité, pour deux composés non testés, qui sera la "cible" chimique.

1.2. Définition d'oxyde d'aluminium :

L'alumine ou oxyde d'aluminium a pour formule Al_2O_3 , lorsqu'elle est sous la forme anhydre. On le trouve à l'état naturel dans la bauxite, sous forme hydratée, mélangée à de l'oxyde de fer. On le trouve aussi comme minerai sous forme de corindon ($\alpha-Al_2O_3$). L'alumine ou oxyde d'aluminium, est naturellement présent dans la bauxite. Sa structure est illustrée dans la (figure 08) [8].

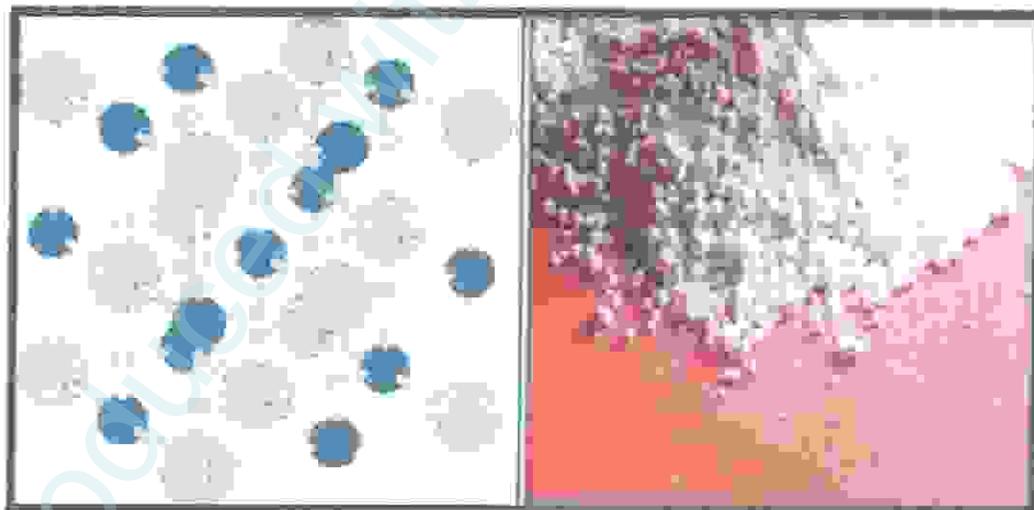


Figure 08 : A gauche : Structure de l'alumine. A droite : Microbilles d'alumine [8].

L'alumine se retrouve dans des produits de l'industrie agroalimentaire, cosmétiques, des médicaments (notamment des vaccins) et parfois même dans l'eau du robinet qu'il permet de rendre plus claire. L'alumine contient de l'aluminium, qui lorsqu'il est présent dans les produits alimentaires ou les vaccins "est en principe éliminé par les reins, mais selon des

études, à haute dose ou en cas de prédisposition génétique, il favoriserait la myofasciite à macrophages" [9].

1.3.2. Propriétés physico-chimique de l'oxyde d'aluminium :

Tableau03 : descriptif de nanoparticule de l'oxyde d'aluminium [9].

Nom chimique	L'oxyde d'aluminium
Formule chimique	Al_2O_3
Apparence	Poudre blanche et fine
Masse molaire	102 (g/mole)
T° fusion	2 072 °C
Masse volumique	3,9 (g/cm ³)
T° ébullition	2 977 °C

1.4. Définition de L'oxyde de Zinc :

L'oxyde de zinc est un composé inorganique de formule chimique ZnO, il est sous forme de poudre blanche ; la poudre est largement utilisée comme additif dans de nombreux matériaux comme les céramiques, verre, ciment, les lubrifiants, les peintures, les adhésifs, les mastics, les piles, les retardateurs de feu. L'oxyde de zinc est présent dans la croûte terrestre comme un zincite minérale, mais la majorité d'oxyde de zinc utilisé dans l'industrie est produit par synthèse (Hernandezbattez, 2008).

1.5. Propriétés physico-chimique de l'oxyde de zinc :

Tableau 04 : descriptif de nanoparticule de l'oxyde de zinc (Hernandezbattez, 2008).

Nom chimique	L'oxyde d'aluminium
Formule chimique	ZnO
Apparence	Poudre blanche
Masse molaire	81, 37(g/mole)
T° fusion	1975°C
Masse volumique	5,606 g cm ⁻³
T° ébullition	2360 °C

2. Les méthodes de calcul :

Les tests *in silico* se basent sur des modèles de calcul pour évaluer la sécurité des substances chimiques telles que les nanomatériaux.

Au sens large, la modélisation moléculaire implique à la fois l'utilisation :

- ❖ d'outils informatiques spécialement dédiés à la représentation des molécules (ex : logiciel (**Gaussian 09**))
- ❖ des méthodes de calculs théoriques permettant de déterminer leurs propriétés physico chimiques.

Un logiciel de modélisation moléculaire comprend de manière générale les modules suivants :

- i. *Construction, visualisation et manipulation des molécules.*
- ii. *Calculs.*
- iii. *Sauvegarde des structures et gestion des fichiers.*
- iv. *Étude des propriétés moléculaires.*

2.1. Gaussian :

Gaussian 09 est un logiciel de chimie quantique permettant de réaliser des calculs très variés. Il est utilisé par de nombreux chimistes, ingénieurs chimistes, biochimistes, physiciens et autres pour une recherche dans des domaines connus, mais surtout pour faire émerger des propriétés inconnues dans le domaine concerné.

Gaussian 09 (Figure 09) est la dernière version de la série. Il fournit des capacités de pointe pour la modélisation de structure électronique (Samia, 2008).

2.1.1. Fonctionnalités :

Se basant sur les lois basiques de la mécanique quantique, **Gaussian** prédit les énergies, les structures moléculaires et les fréquences de vibration des systèmes moléculaires, en même temps que de nombreuses propriétés moléculaires. Il peut être utilisé pour étudier les molécules et réactions dans une large gamme de conditions, incluant à la fois les espèces stables et les composés difficiles ou impossibles à observer expérimentalement, comme des intermédiaires à courte durée de vie ou des états de transition. Voici quelques-unes de ses fonctionnalités utilisées (Samia, 2008) :

- La modélisation d'énergies en utilisant un grand nombre de méthodes, incluant Hartree-Fock, Théorie Fonctionnelle de la Densité.

- Géométries d'équilibres ou d'états de transition (optimisée en coordonnées internes redondantes pour la vitesse), incluant la recherche par structure de transition.
- Spectres de vibration, incluant IR, intensités Raman non résonnantes et Pré-résonance, couplage de vibration-rotation.
- Propriétés magnétiques, incluant déplacements chimiques.
- Corrections au point Zéro : L'approximation Born-Oppenheimer donne une énergie inférieure à l'énergie réelle du système étudié et cela parce que le programme de calcul négligera les mouvements des noyaux. L'énergie ainsi obtenue doit être corrigée en ajoutant à cette valeur l'énergie du système au point zéro absolu définie comme suit : ZPE
- l'affinité protonique (PA) est calculée selon l'expression :

$$PA = \Delta H^{\circ}_g (A) + \Delta H^{\circ}_g (H) - \Delta H^{\circ}_g (HA)$$

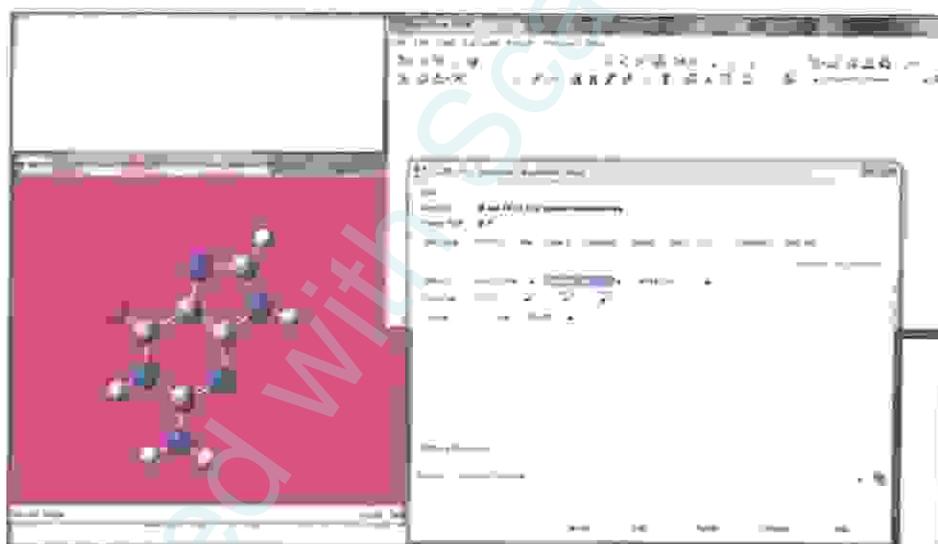


Figure 09 :L'interface de logiciel Gaussian.

2.1.2. Méthodes de calculs utilisées :

2.1.2.1. Semi-empirique (PM3) :

Les méthodes semi-empiriques plus rapide que les méthodes *ab initio*, elles permettent de modéliser les « gros » systèmes moléculaires grâce à deux Approximations. La première consiste à ne prendre en compte que la couche de valence. La seconde consiste à négliger la plupart des intégrales de répulsion électronique à plusieurs centres. Elles utilisent des paramètres ajustés aux résultats expérimentaux ou obtenus par des calculs *ab initio*. Elles ont tendance à conduire à d'importantes erreurs dans le calcul des énergies totales des molécules. Toutefois, on peut supposer que ces erreurs sont du même ordre de grandeur lors de la

comparaison de molécules de structures voisines. Ainsi que la Méthode **PM3** (Parametric Method 3) : proposée par Stewart en 1989. Elle utilise une procédure de paramétrisation automatique à la cour des calculs (**Méchachti, 2010**).

2.1.2.2. Méthode de Hartree-Fock

La théorie **Hartree-Fock** utilise le principe vibrationnel permettant d'affirmer que pour l'état fondamental, et la valeur de l'énergie associée à n'importe quelle fonction d'onde normalisée et antisymétrique sera toujours supérieure ou égale à l'énergie associée à la fonction d'onde exacte qui représente la plus basse valeur propre associée à la fonction propre exacte.

L'énergie de la fonction d'onde exacte peut ainsi servir de borne limite inférieure à l'énergie calculée pour n'importe quelle autre fonction d'onde antisymétrique normalisée. Ainsi, le déterminant de Slater optimal est obtenu en cherchant le minimum énergétique. Les équations d'**HF** sont trop complexes pour permettre une résolution directe par des techniques d'analyse numérique. Il est donc nécessaire d'effectuer une transformation supplémentaire qui sera plus adaptée. (**Amraoui, 2011**).

2.1.2.3. La Théorie Fonctionnelle de la Densité (DFT)

La **DFT** s'est développée autour du théorème d'Hohenberg et Kohn établissant que l'état fondamental d'un système électronique est une fonctionnelle de la densité électronique. La connaissance de cette fonctionnelle suffit pour calculer l'ensemble des propriétés du système.

La **DFT** est capable de déterminer avec précision les propriétés moléculaires géométriques, les énergies de liaisons et différents types de spectre pour des molécules aussi complexes que des composés de coordination (**Méchachti, 2010**). De plus, les surfaces d'énergie potentielle des réactions chimiques prédites par les fonctionnelles corrigées par le gradient et/ou les fonctionnelles hybrides sont aussi précises que celles prédites par les niveaux de théories ab initio les plus sophistiqués.

2.1.3. Les fonctions de base

Le choix de la base d'orbitales est aussi un critère très important pour une bonne estimation des données, bien qu'il soit moins important pour la **DFT** que pour les autres

méthodes *ab initio*, en particulier post Hartree Fock, la base représente la description des orbitales atomiques.

⚡ La base 6-31 G*:

Décrit une orbitale atomique par la combinaison de six fonctions gaussiennes par orbitale de cœur, de trois autres pour la description des électrons de valence et d'une dernière pour description des électrons de valence les plus éloignés du noyau (externe). La comparaison entre grandeurs calculées et valeurs expérimentales nous permet de conclure que la base 6-31G* donne pour ce type de molécules, le meilleur accord avec les données expérimentales (Méchachti, 2010).

⚡ La base B3LYP (Les fonctionnels hybrides) :

Ces fonctionnelles d'échanges sont combinées de fonctionnelles de corrélation, locale et/ou de gradient généralisé. Les fonctionnels hybrides les plus populaires sont B3LYPet B3PW91 (Amraoui, 2011).

2.1.4. Étude spectroscopique :

L'Infrarouge (IR) concerne le nombre et le type de liaisons chimiques. Son domaine s'étend de 400 à 4000 cm^{-1} . Chaque liaison d'une molécule vibre en permanence à une fréquence qui dépend :

- ✓ Du type d'atomes de la liaison.
- ✓ Du type de la liaison.

Seules les vibrations qui font varier le moment dipolaire de la molécule absorbent les radiations infrarouges. (Pedro Lopes et al., 2012).

Et donc les molécules qui n'absorbent pas dans l'IR sont celles qui n'ont pas de moment dipolaire permanent. Par ailleurs, dans la zone du proche infrarouge, les absorptions ne sont pas dues aux vibrations fondamentales des molécules, mais aux vibrations harmoniques et aux vibrations de combinaisons. Chaque pic d'absorption est donc caractéristique d'un certain type de liaison et on distingue :

- ⚡ Les vibrations de stretching, généralement intenses de 2000-4000 cm^{-1} .
- ⚡ Les vibrations de liaison de 1500-2000 cm^{-1} .
- ⚡ La région de 600-1500 cm^{-1} étant en général qualifiée d'empreinte digitale.

Résultat et discussion

Produced with ScanTopDF

1. Résultats :

Les propriétés géométriques et spectroscopiques des bases nucléiques ont été intensément analysées aussi bien sur le plan expérimental que sur le plan théorique, toutefois les méthodes expérimentales manifestent des fois des ambiguïtés au vue des conditions dans lesquelles les expériences ont été faites, l'outil informatique demeure la seule solution pour une bonne interprétation des résultats obtenus.

■ Les sites de protonation :

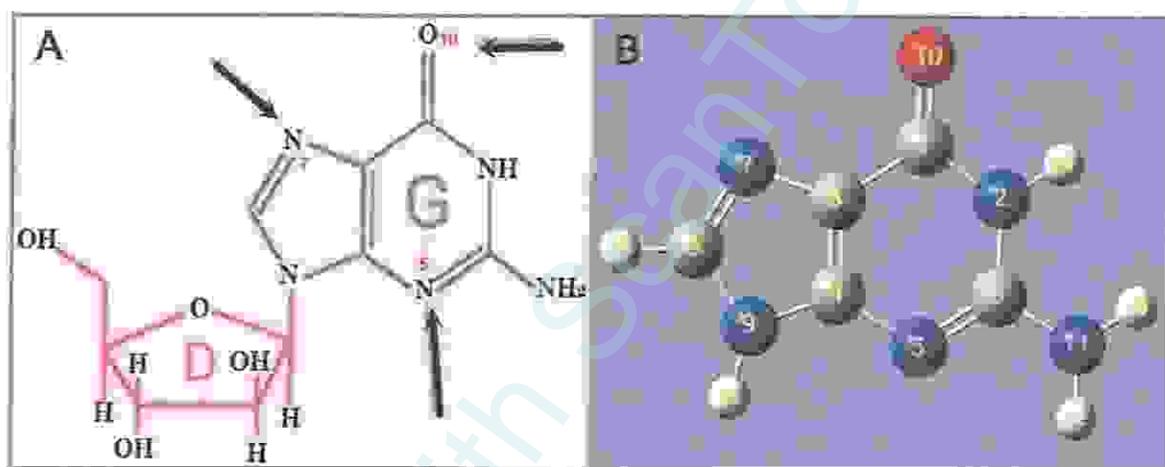


Figure 10 : Les sites de protonation de la Guanine (A : la forme en 2D, B : la forme en 3D).

La Figure 10 montre l'existence de trois sites susceptible d'être protonées : N7, O10 et N5. Des études théoriques basées sur les calculs *in silico* par la méthode de la théorie fonctionnelle de la densité (DFT), et des méthodes semi-empiriques telles que (PM3), et Hartree-Fock (HF), sont effectuées pour l'étude de différents sites de protonation de la guanine (Sivanesan et al., 2001). Différents calculs ont été effectués suggèrent que la protonation de la guanine a lieu sur le site N7 (Cloutier, 2001). Pour sélectionner le site le plus sensible et favorable, on a calculé les énergies et l'affinité protonique qui sont mentionnés ci-dessous (Tableau 05).

Tableau 05 : Les énergies de la Guanine neutre et Guanine protonée.

Méthodes de calculs		Les structures		
		Guanine	Guanine (N7)	Guanine(O10)
Energie (Kcal/Mol)	PM3	10,1070	10,3495	27,4346
	HF (6-31G (d, p))	-38482,65	-338812,42	-338792,44
	DFT(B3LYP)	-340460,66	-34080,36	-340780,03
ZPE (Kcal/Mol)	PM3	81,526591	89,839202	89,580041
	HF (6-31G (d, p))	77,866331	96,055306	88,129658
	DFT(B3LYP)	81,051567	94,917005	89,581296
ΔP (Kcal/Mol)	PM3	—	—	—
	HF (6-31G (d, p))	—	235,88	232,70
	DFT(B3LYP)	—	229,68	244,09

Les résultats obtenus en 6-31G (d, p) sont en agrément avec les valeurs obtenues en B3LYP/6-31G (d, p) ; la protonation au niveau N7 est plus favorable que sur O10 avec un écart énergétique vaux 339,69 Kcal/Mol et 319,36 Kcal/Mol en introduisant la zéro point énergie. L'intérêt de l'étude des différents tautomères des bases d'ADN provient des tentatives d'explication du mécanisme des mutations spontanées de l'ADN, pour ce fait, on a choisi ici de faire une étude comparative entre deux formes tautomériques de la Guanine ; la forme Énol et la forme Cétone (figure 11). Nous n'avons ciblé que les formes les plus stables, puis on a réalisé une comparaison entre nos résultats théoriques et les résultats expérimentaux qui sont déterminés par Janzen *et al.*, 2001.

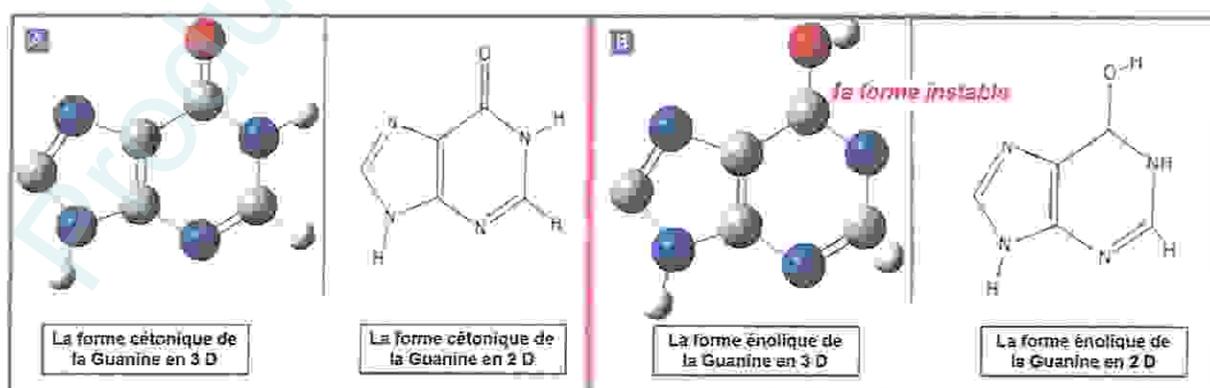


Figure 11 : La forme tautomère de la Guanine (A : la forme Cétone, B : la forme Énol) (zaghlami et bouyedda,2015).

La **figure 11** illustre la forme tautomérique telle que : **Céto** (C=O), **Énol** (C-OH), **Amine** (-NH₂) et **Imino** (-NH) aussi bien que les tautomères prototypiques tels que N2H et N7H-N9H (**Figure10**).

Après l'application de la réaction de protonation sur la Guanine, une mutation spontanée est possible. En déduit donc un mésappariement qui va créer une mutation par substitution de type transition **GC→AT** (lors de la première réplication, la Guanine va subir un changement tautomérique vers la forme **Énol** rare (instable), elle est alors appariée avec la thymine (**Figure 12**) (**Christian, 2005**),..

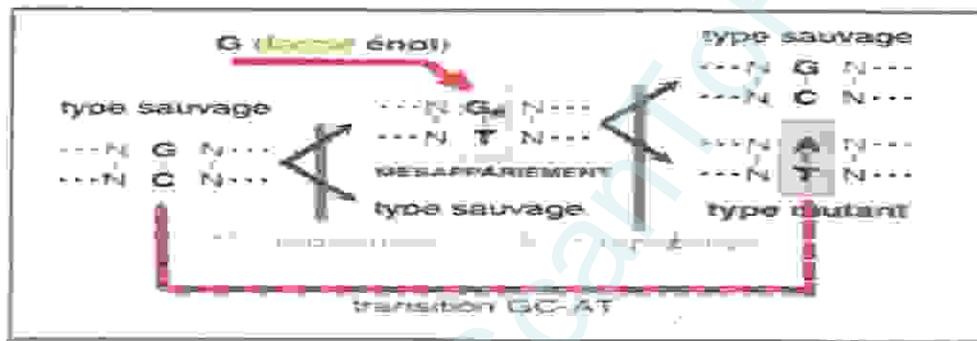


Figure 12 : mutation spontanée par transition (Christian, 2005).

■ **Paramètres structuraux de la Guanine neutre et Guanine protonée :**

Dans le but de comparer la déformation des composants de la guanine neutre (**tableau 6**), (**Figure 13**) ; et de la guanine protonée (**tableaux 7 et 8**), (**Figures 14, 15**), les paramètres géométriques sont calculés par les méthodes **PM3, HF et DFT**.

Tableau 06 : Les paramètres géométriques de la Guanine neutre.

Les liaisons	PM3	HF	DFT
Longueur de liaison (Å°)			
C(8)-N(7)	1.3298	1.3421	1.2775
N(7)-C(3)	1.3891	1.3976	1.3787
C(3)-C(1)	1.4492	1.4139	1.3794
C(1)-O(10)	1.2201	1.216	1.1939
C(1)-N(2)	1.3275	1.4552	1.4165
Angles de flexion(°)			
C(8)-N(7)-C(3)	104.5511	108.042	104.7308
C(1)-N(7)-C(3)	130.554	131.0855	130.7704
C(3)-C(1)-O(10)	121.9905	132.0321	131.3293
O(10)-C(1)-N(2)	121.9979	115.0892	118.9599

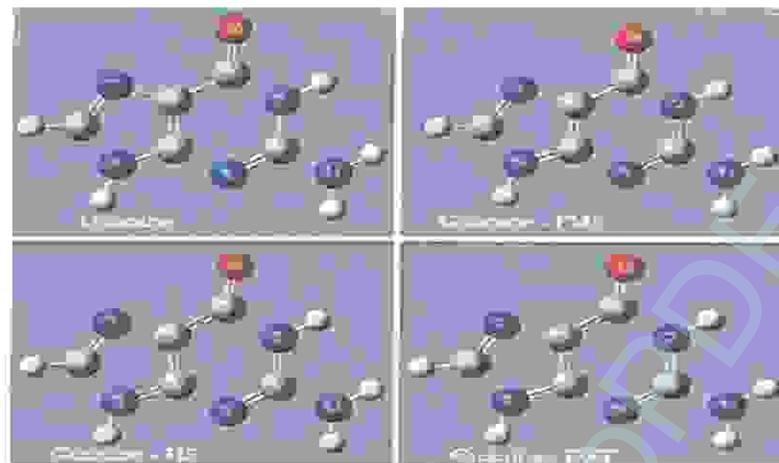


Figure 13 : L'aspect des différentes formes chimiques de la Guanine neutre après application des méthodes de calcul (PM3, HF et DFT).

Tableau 07 : Les paramètres géométriques de la Guanine protonée (N7).

Les liaisons	PM3	HF	DFT
Longueur de liaison (Å ^o)			
C(8)-N(7)	1.3299	1.4248	1.418
N(7)-C(3)	1.3892	1.4369	1.4145
C(3)-C(1)	1.4491	1.4386	1.413
C(1)-O(10)	1.22	1.2219	1.2027
C(1)-N(2)	1.3275	1.4473	1.4153
N(7)-H(17)	1.3448	0.991	0.9978
Angles de flexion(°)			
C(8)-N(7)-H(17)	124.8784	118.0562	115.9648
H(17)-N(7)-C(3)	129.278	117.8086	116.3532
N(7)-C(3)-C(1)	130.5473	130.2929	130.6168
C(3)-C(1)-O(10)	121.9995	130.5563	130.5305
O(10)-C(1)-N(2)	121.9993	116.1806	119.327

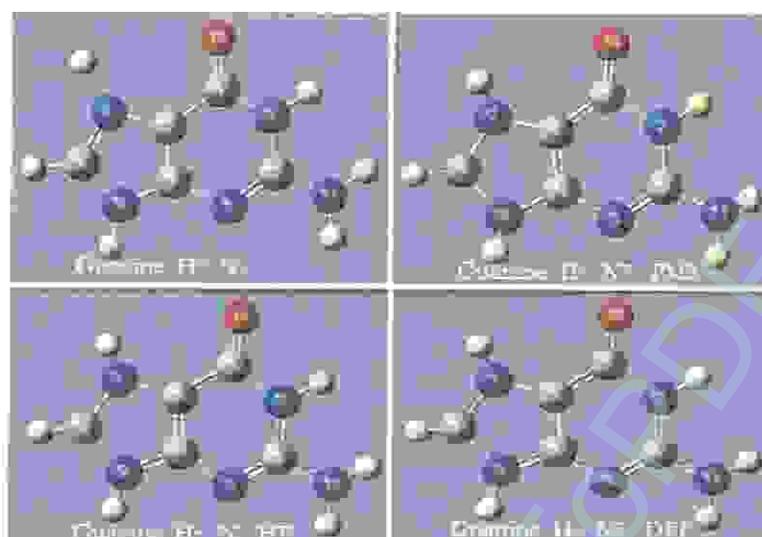


Figure 14 : L'aspect des différentes formes chimiques de la Guanine protonée (N7) après application des méthodes de calcul (PM3, HF et DFT).

Tableau 08 : Les paramètres géométriques de la Guanine protonée (O10).

Les liaisons	PM3	HF	DFT
Longueur de liaison (Å°)			
C(8)-N(7)	1.3329	1.3499	1.2909
N(7)-C(3)	1.3891	1.402	1.3794
C(3)-C(1)	1.4491	1.4465	1.4346
C(1)-O(10)	1.22	1.3573	1.3534
C(1)-N(2)	1.33	1.4394	1.4292
O(10)-H(17)	1.3553	0.9492	0.9411
Angles de flexion(°)			
C(8)-N(7)-C(3)	104.5103	107.7691	104.6628
N(7)-C(3)-C(1)	130.5401	132.8689	132.3947
C(3)-C(1)-O(10)	122.0035	121.899	126.6791
C(1)-O(10)-H(17)	109.0862	108.9876	112.2117
O(10)-C(1)-N(2)	121.9978	121.5499	111.9015

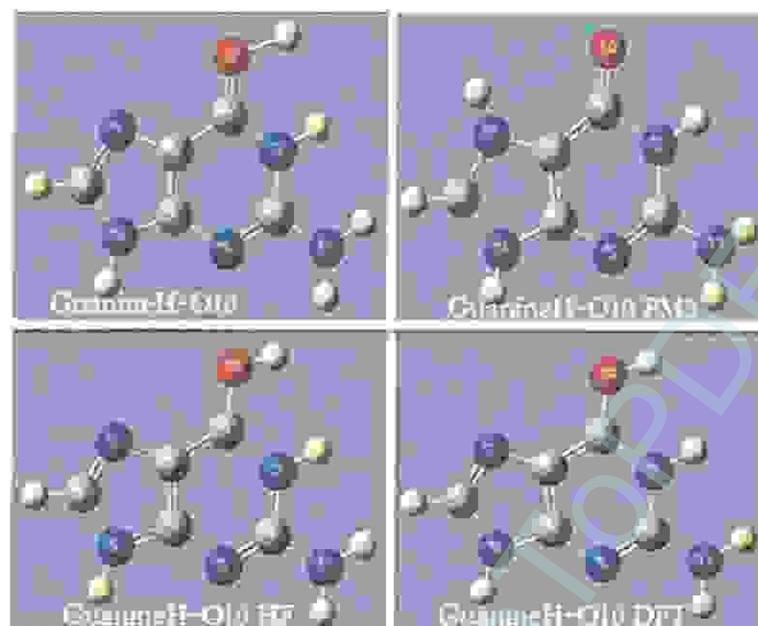


Figure 15 : L'aspect des différentes formes chimiques de la Guanine protonée (O10) après application des méthodes de calcul (PM3, HF et DFT).

Au niveau des (tableaux 6, 7 et 8), on a présenté les valeurs concernant les liaisons et les angles. La comparaison des valeurs de la guanine neutre et la guanine protonée révèle le changement des paramètres géométriques dans la zone de protonation.

Ce transfert de proton à travers la liaison hydrogène possède une importance dans les processus physiques, chimiques et biochimiques, la raison est qu'il peut engendrer des points de mutation dans la molécule tels que des changements géométriques (Bitam, 2008).

L'effet de la protonation du carbonyle se traduit par l'élongation de la liaison C-O (1.1939-1.3573 Å) qui indique la perte de la double liaison. Au même temps on remarque que les liaisons adjacentes C1-N2 et C1-C3 augmentent (1.4165 - 1.4292 Å), (1.3794 - 1.4346 Å) respectivement, et par conséquent ; l'angle interne du C=O croît de presque (7.2°).

La protonation du nitrogène (N7) se traduit par une petite élongation des liaisons adjacentes C3-N7 (1.3787 - 1.4145 Å) et C8-N7 (1.2775 - 1.418 Å) de plus on remarque une élongation concrète pour les autres liaisons du cycle pentagonale.

Ainsi, les résultats obtenus par les méthodes PM3, HF et DFT nous montrent que la protonation au niveau du site N7 est plus favorable que sur le site O10. En déduit l'existence d'une compétition entre le N7 et l'O10 via l'attraction du proton.

■ Étude spectroscopique (IR) :

Les vibrations de la **guanine neutre** et **protonée** ont été étudiées dans la gamme **500 - 4000** cm^{-1} . (Pedro Lopes et al., 2012).

Les fréquences vibrationnelles concernant la **guanine neutre** et les deux formes protonées sont obtenues au niveau de la base 6-31 G (d, p). Pour une éventuelle comparaison entre les spectres expérimentaux (voir Annexe 06), et nos résultats, on a présenté les spectres théoriques (figure 16, 17 et 18).

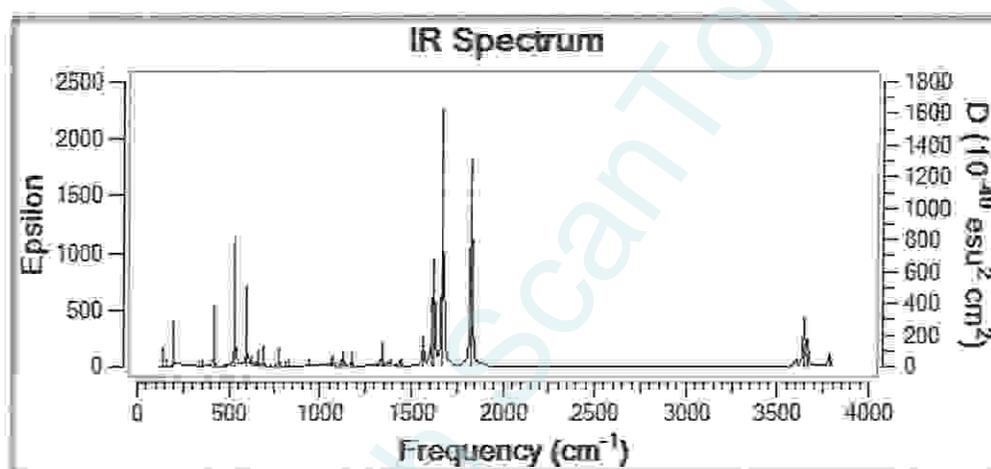


Figure 16 : Spectre IR de la Guanine neutre (Voir annexe 01).

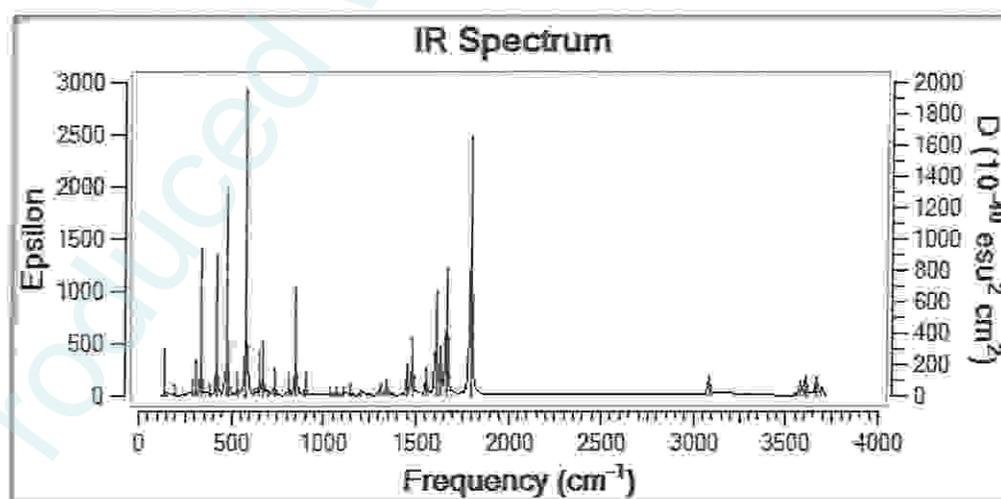


Figure 17 : Spectre IR de la Guanine protonée au niveau N7 (Voir annexe 02).

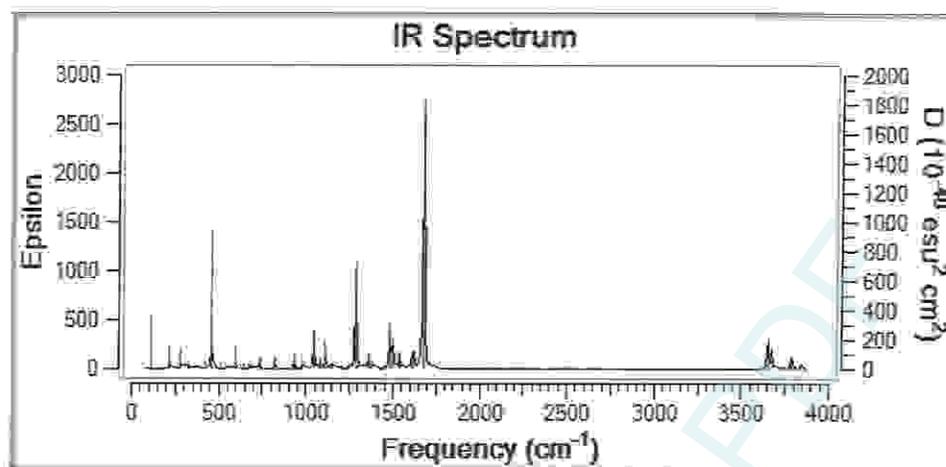


Figure 18 : Spectre IR de la Guanine protonée au niveau O10 (Voir annexe 03).

Pour les spectres IR simulés ; on souligne un petit décalage de la bande d'absorption, suite à la réaction de protonation au niveau N7 et O10 (Figures 17,18).

✦ Au niveau de site de fixation N7 :

- On remarque l'apparition de nouvelles bandes vibrationnelles (1344, 1452, 1796 et 3083 cm^{-1}) dans la région 500 - 4000 cm^{-1} ; caractérisent l'absorption des liaisons (C1-C3), (C6-N5), (C=O) et (C1-C3), (NH2) à cause de la protonation au niveau N7.
- On constate également un déplacement des bandes vibrationnelles qui caractérisent l'absorption des liaisons (les fréquences expérimentales par rapports aux fréquences simulées) tableau ci-dessous :

Tableau 09 : Des fréquences expérimentales et simulées au niveau N7.

Les fréquences expérimentales	Les fréquences simulées	Liaison d'absorption
540	581	N5-C4-C3
644	655	C6-N2-C1
688	673	C4-C1
727	737	C1-C3-N7
850	851	N2-C6-N5
881	905	N7H
1475	1480	C3-N7
1552	1554	C=O
1562	1608	N2H
1672	1667	C6N2

⊥ Au niveau de site de fixation O10 :

- On enregistre l'apparition de nouvelles bandes vibrationnelles (597-1500 - 1611-1620-3652-3673-3788 - 3845 cm^{-1}) dans la région 500-4000 cm^{-1} ; caractérisent l'absorption des liaisons (N5-C4-C3), (C=O) à cause de la protonation au niveau O10.
- On remarque également un déplacement des bandes vibrationnelles qui caractérisent l'absorption des liaisons tableau ci-dessous :

Tableau 10 : Des fréquences expérimentales et simulées au niveau O10.

Les fréquences expérimentales	Les fréquences simulées	Liaison d'absorption
540	545	C1-N2-C6
772	734	C8-C3-N7
850	821	N7H
949	929	N7-C8-N9
1043	1044	C6-N3
1120	1113	C1-N2
1261	1287	C3N7
1475	1484	C8-N7

■ Paramètres structuraux des complexes (Guanine- Al_2O_3 et Guanine-ZnO) :

Dans le but de contrôler la déformation, certains paramètres géométriques sont calculés (tableaux ci-dessous 11, 12 et 13).

Tableau 11 : Les énergies de la Guanine- Al_2O_3 et Guanine-ZnO.

Méthodes de calculs		Les Structures	
		Guanine- Al_2O_3	Guanine-ZnO
énergie Kcal/Mol	PM3	-1,471230	-472,2335259
	HF (6-31G (d, p))	-490253,54	-1453536,256
	DFT(B3LYP)	-492574,80	-1456493,3
ZPE Kcal/Mol	PM3	96,070366	79,881262
	HF (6-31G (d, p))	100,966190	86,274711

	DFT(B3LYP)	92,204283	74,43825
AP Kcal/Mol	PM3	-16,33	—
	HF (6-31G(d, p))	-20,46	1,253
	DFT(B3LYP)	—	9,035

Tableau 12 : Les paramètres géométriques de la Guanine- Oxyde d'aluminium.

Les liaisons	PM3	HF	DFT
Longueur de liaison (Å°)			
C(8)-N(7)	1.3329	1.4149	1.3895
N(7)-C(3)	1.3891	1.36921	1.4309
C(3)-C(1)	1.4492	1.4097	1.3471
C(1)-O(10)	1.22	1.2586	1.2676
C(1)-N(2)	1.3274	1.4473	1.3936
N(7)-Al (17)	1.7076	2.0102	—
Angles de flexion(°)			
C(8)-N(7)-Al(17)	159.5164	159.8668	102.9799
Al (17)-N(7)-C(3)	95.9733	94.9499	151.7463
C(8)-N(7)- C(3)	104.5503	105.1833	102.9799
N(7)-C(3)-C(1)	130.5401	130.0489	123.2213
C(3)-C(1)-O(10)	122.0035	131.7732	119.4909
O(10)-C(1)-N(2)	121.9978	113.9982	113.9877
C(5) O(10) Al(17)	92.6393	—	108.0697

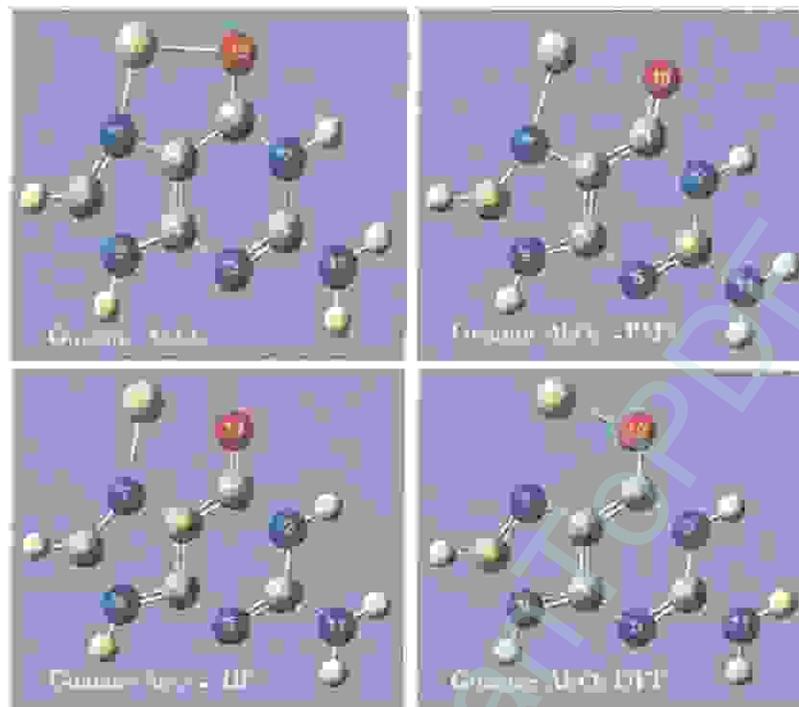


Figure 19 : L'aspect des différentes formes chimiques de la Guanine- Al_2O_3 après application des méthodes de calcul (PM3, HF et DFT).

Tableau 13 : Les paramètres géométriques de la Guanine- Oxyde de zinc.

Les liaisons	PM3	HF	DFT
Longueur de liaison (Å)			
C(8)-N(7)	1,2667	1,3648	1,3035
N(7)-C(3)	1,4205	1,4345	1,3884
C(3)-C(1)	1,7341	1,4105	1,3726
C(1)-O(10)	1,3353	1,3155	1,2688
C(1)-N(2)	1,4234	1,3936	1,3509
N(7)-Zn(17)	1,8955	2,0084	1,9858
Angles de flexion(°)			
C(8)-N(7)-Zn(17)	160,4956	158,1634	160,267
Zn(17)-N(7)-C(3)	—	95,7812	95,8153
C(8)-N(7)- C(3)	120,8052	106,054	103,9177
N(7)-C(3)-C(1)	127,2641	126,9593	126,2721
C(3)-C(1)-O(10)	125,5069	121,011	120,5014
O(10)-C(1)-N(2)	129,0631	122,8025	125,7874
C(5) O(10) Zn(17)	—	102,1084	104,35

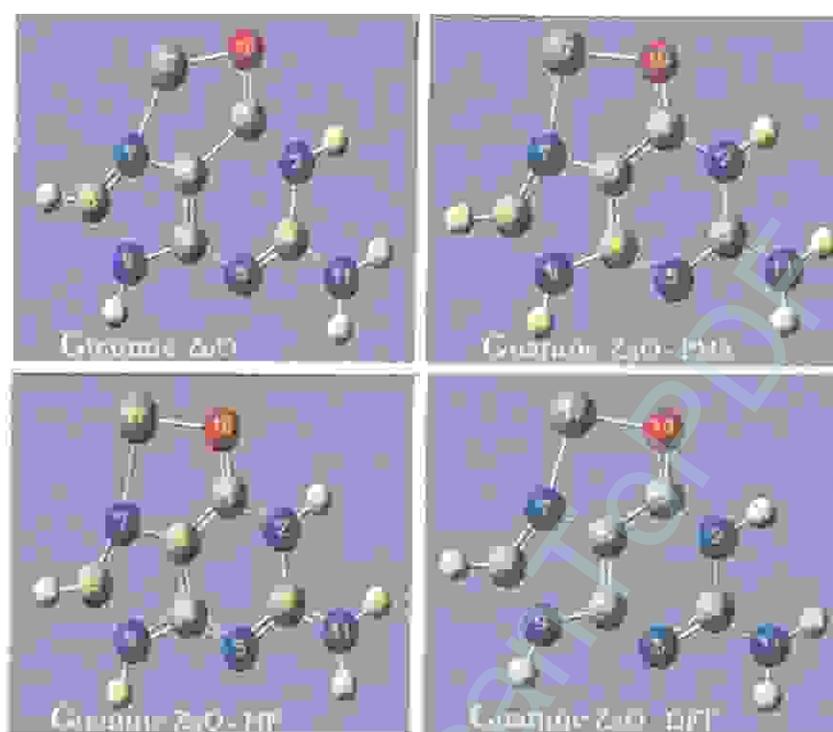


Figure 20 : L'aspect des différentes formes chimiques de la Guanine-ZnO après application des méthodes de calcul (PM3, HF et DFT).

Les nanostructures (Al_2O_3 , ZnO) utilisées ne possèdent pas les mêmes propriétés géométriques, puisque on enregistre un changement géométrique considérable au niveau de la zone de protonation (tableaux 06, 12 et 13), (Figures 13, 19 et 20), ce qui explique l'instabilité des deux complexes (Guanine- Al_2O_3 , Guanine- ZnO), avec la guanine, mais elle leur donne une instabilité par la formation d'un cycle benzénique cationique de la guanine. La comparaison des paramètres géométriques ci-dessus (tableaux 06, 12 et 13), avec celles citées dans le même chapitre de notre base neutre nous permet de déterminer les différents changements sur les liaisons et les angles, d'où on remarque d'une part : élongation de la liaison C1-O10 de (1,1939 Å- 1,2676 Å), (1,1939 Å- 1,2688 Å), ce qui signifie que l'oxygène a une tendance à arracher le proton. D'autre part : on remarque une élongation de C3-N7 de (1,3787 Å- 1,4309 Å), (1,3787 Å- 1,4345 Å), et une diminution de l'angle C3-N7-C8 de (108,042°- 105,1833°), (108,042°- 106,054°) ce qui signifie que N7 a aussi une tendance à arracher le proton. Ce qui nous ramène à faire une analyse des coefficients des orbitales atomiques de la HOMO et de la LUMO de chaque complexe.

Type Orbital	Guanine Neutre	Guanine -Al ₂ O ₃	Guanine -ZnO
HOMO	-0,20281	-0,01217	-0,03595
LUMO	0,00160	0,00099	0,01424

40 0,00160	40 0,00099	78 0,01424
39 -0,20281	40 -0,01217	74 -0,03595

Figure 21 : La visualisation des orbitales LUMO et HOMO pour : (Guanine neutre, Guanine-Al₂O₃ et Guanine-Al₂O₃).

■ Étude Spectroscopique des complexes (Guanine-ZnO et Guanine-Al₂O₃) :

L'étude spectroscopique de nos complexes nous montre qu'il y a un décalage des bandes vibrationnelles, à cause de la présence d'oxyde d'aluminium et d'oxyde de zinc (figures 16, 22 et 23). (Pedro Lopes et *al.*, 2012).

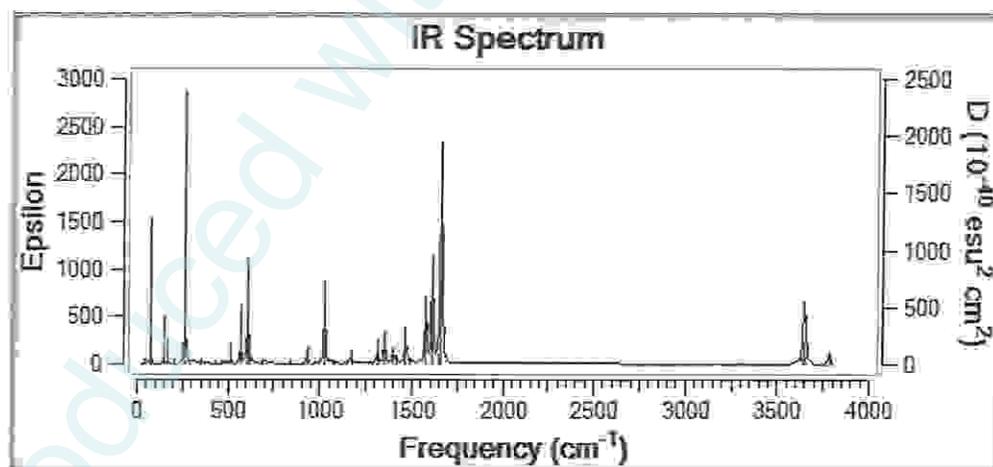


Figure 22 : Spectre IR du complexe Guanine Oxyde d'aluminium (Voir annexe 04).

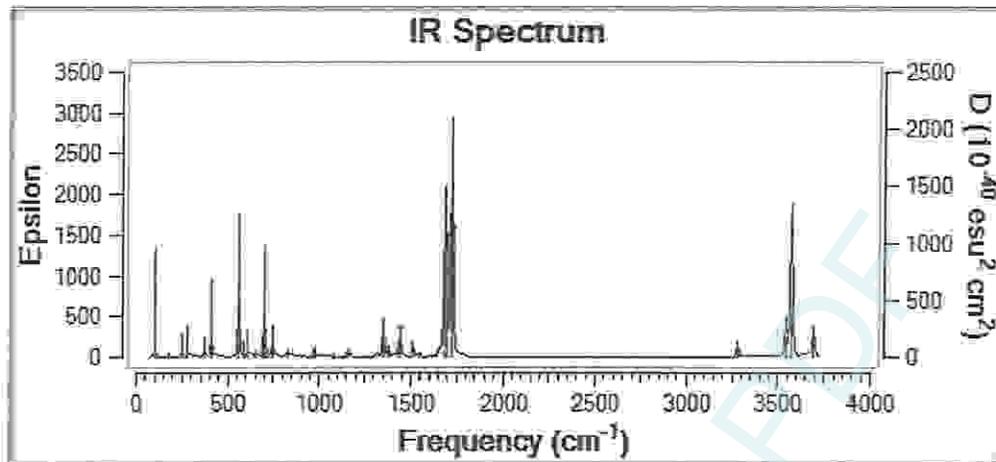


Figure 23 : Spectre IR du complexe Guanine Oxyde du Zinc (Voir annexe 05).

✦ **Complexe Guanine-Al₂O₃ :**

- L'apparition de nouvelles bandes vibrationnelles (607-616-929-1026-1399-1467-1578 , 1614-1653-1661-3305-3646-3655-3782 cm⁻¹) dans la région 500 - 4000 cm⁻¹; caractérisent l'absorption des liaisons du complexe guanine-Oxyde d'aluminium (C8-N7), (N7-C3), (N7-C8), (N7-N9), (C6N2), (C3-N7), (C6-N5), (C=O), (C6-N2), (C=O).
- On remarque également un déplacement des bandes vibrationnelles qui caractérisent l'absorption des liaisons, tableau ci-dessous :

Tableau 14 : Des fréquences expérimentales et simulées du Complexe Guanine-Al₂O₃.

Les fréquences expérimentales	Les fréquences simulées	Liaison d'absorption
503	510	N2C1C3
604	566	C8N7C3
1150	1172	NH2
1334	1354	C1C3
1417	1419	NH2

✦ **Complexe Guanine-ZnO :**

- L'apparition de nouvelles bandes vibrationnelles (587, 701, 978, 1350 1442, 1513, 1693, 1723, 3230, 3543, 3568, 3572, 3694 cm⁻¹) dans la région 500 - 4000 cm⁻¹;

caractérisent l'absorption des liaisons du complexe Guanine-ZnO (C6-N5), (N5-C4), (N2-C1), (C1=O), (N7-C8), (C8-N9), (C1-C3), (N2H), (C=O).

- On enregistre également un déplacement des bandes vibrationnelles qui caractérisent l'absorption des liaisons, tableau ci-dessous :

Tableau 15 : Des fréquences expérimentales et simulées du Complexe Guanine-ZnO.

Les fréquences expérimentales	Les fréquences simulées	Liaison d'absorption
540	560	C6-N2-C1
604	610	C8-N7-C3
688	693	N11-H13
779	747	NH2
1373	1379	C3-N7
1417	1437	C1-C3
1697	1683	C6-N2

2. Discussion :

L'utilisation des méthodes de calcul facilite l'interprétation des résultats expérimentaux c'est ce qu'on a essayé de le montrer lors de l'analyse géométrique lors de l'évaluation de l'influence de la complication sur les géométries de deux molécules étudiées et de prédire l'état de transition formé par le transfert du proton.

Lors de notre étude, de l'évolution du transfert du proton entre les nanoparticules sélectionnées et la guanine ; on a identifié le site le plus susceptible d'être protonée (N7) conformément à ce qui a été trouvé expérimentalement (Sivanesan *et al.*, 2001, Cloutier, 2001). En suite, on a calculé l'énergie, l'analyse des orbitales frontières et l'étude spectroscopique (IR) qui nous a donné une idée sur l'effet mutagène causé par les nanoparticules (Al_2O_3 , ZNO) lors de leurs interactions avec la guanine.

Étant du même ordre de grandeur que les molécules d'ADN, les nanomatériaux peuvent interagir directement avec l'ADN pour induire des dommages (Pan *et al.*, 2007, 2009; Alkilany *et al.*, 2009). La toxicité causée par l'interaction directe des nanomatériaux avec l'ADN est appelé génotoxicité primaire (Arora *et al.*, 2012). La génotoxicité secondaire est

induite par les effets des ERO formés lors de l'interaction des nanomatériaux avec le système cellulaire ou directement par l'action catalytique des nanomatériaux-(Shukla *et al.*, 2011).

Les sous-produits de l'oxydation cellulaire, comme la 8-OHGua peuvent également entraîner une géotoxicité par leur action mutagénique (Sajous *et al.*, 2008). Ce dernier présente un potentiel mutationnel important car les ADN polymérases peuvent incorporer le monophosphate de désoxyadénosine (dAMP) en face de la guanine modifiée, ce qui entraîne une transversion GC → TA (tautomérisation) (Christian, 2005). En définitive, la tautomérisation est le premier pas dans la mutation et l'endommagement de l'ARN engendrés par l'exposition aux nanostructures.

Ces effets sont le résultat d'une altération de l'intégrité structurelle de l'ADN et sont de bons indicateurs des effets génotoxiques des nanomatériaux (Singh *et al.*, 2009).

Produced with ScanTOPDF

CONSTITUTION GENEVA 17

Dans ce PFE nous avons présenté les opportunités offertes par l'intégration d'informations obtenues *in vitro* dans un modèle Gaussian afin de prédire la toxicodynamique *in silico* des nanoparticules. L'espoir pour ces méthodes est d'obtenir des niveaux de prédiction des dangers identiques à ceux des tests *in vivo* sur animaux, voire d'obtenir des niveaux de prédiction meilleurs en utilisant des tests ou modèles développés spécifiques pour l'homme et ainsi éviter les extrapolations interespèces.

L'avantage d'une telle méthodologie serait de réduire les expérimentations animales et les coûts financiers liés à de telles études tout en gardant un même niveau de confiance dans les évaluations de danger ou de risque.

Cependant, il reste à évaluer les méthodes de calculs (**PM3**, **HF** et **DFT**) sur un large panel de molécules, notamment pour les substances émergentes (nanoparticules) ou pour celles pour lesquelles peu d'informations sont disponibles.

Quant à la modélisation par **Gaussian**, celle-ci souffre du manque de données disponible (les valeurs expérimentales). Il est donc nécessaire de créer des bases de données conséquentes intégrant de nombreuses familles chimiques afin de permettre le développement des méthodes de calculs ayant des domaines de validité élargis.

L'approche intégrative «la chimie quantique et activité biologique» est extrêmement prometteuse pour répondre aux exigences de la directive **REACH**. Cette approche devrait aussi devenir un outil privilégié en évaluation du risque des nanoparticules, pour lesquels l'industrie ne peut désormais plus fonder ses évaluations sur des tests animaux.

Références bibliographiques

Produced with ScanTOPDF

Références bibliographique

- Allilany A.M., Nagaria P.K., Hexel C.R, Shaw T.J., Murphy C.J., et Wyatt M.D., (2009). «*Cellular Uptake and Cytotoxicity of Gold Nanorods: Molecular Origin of Cytotoxicity and Surface Effects*». *Small*, vol. 5 n° 10, 701-708P.
- Alvarez R., Naika A., Kalia Y., Guy R., Fessia H., (2004) «*Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles* ». *Journal of controlled Release*, 99:53-62.
- Amraoui N.E., (2011). «*Etude Théorique Des Propriétés Spectroscopiques Des Bases De L'adn Et/Ou Arn*». Mémoire de magister, Université d'el hadj lakhder batna, 7-29P.
- Angélique S.D., (2008). «*Effets biologiques de nanoparticules manufacturées : influences de leurs caractéristiques*».Thèse de doctorat, L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (agro paris tech), 194P.
- Anses (2010). Les nanomatériaux. Rapport d'expertise collective, octobre 2010, 207P.
- Arora S., Rajwade J.M., et Paknikar K.M. (2012). «*Nanotoxicology and in vitro studies: The need of the hour*». *Toxicol. Appl. Pharmacol.* vol. 258, 151-165P.
- Aurelie P., (2011). «*Méthodes alternatives en expérimentation animale : Cas concrets d'outils d'évaluation in vitro / in vivo et de méthodes de prédiction in silico* ».
- Bitam S., (2008). «*Etude théorique des interactions intermoléculaires des s-Alkylaminotriazines protonée avec la guanine*». Mémoire de magister, Université d'el hadj lakhder batna, 8-11 P.
- Borm, P. J., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R., Stone, V., Kreyling, W., Lademann, J., Krutmann, J., Warheit, D., and Oberdorster, E. (2006). «*The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC*». *Part Fibre Toxicol* 3, 11.
- Buzea, C., Pacheco, H, and Robbie, K. (2007). «*Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity*». *Biointerphases* 2(4):MR17-71.
- Chen, Z., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Jia, G., Wang, T., Yuan, H., Ye, C., Zhao, F., Chai, Z., Zhu, C., Fang, X., Ma, B., and Wan, L. (2006). «*Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo*». *Toxicol Lett* 163, 109-120P.

-**Christian M., christian M., (2005).** «*Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires*». bruxelles: Deboeck, 43- 46P.

-**Cloutier J., (2001).** « Caractérisation et distribution des dommages à l'ADN induits par les métabolites réactifs de la 4-(méthylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone spécifique à la fumée de tabac ». Thèse de doctorat. Université laval québec.

-**Conseil des académies canadiennes, Comité d'experts sur les nanotechnologies. (2008).** « *Petit et Différent : Perspective Scientifique Sur les Défis Réglementaires du Monde Nanométrique*». Council of Canadian Academies, 2008, 151P.

-**Cross S.E., Innes B., Roberts M.S., Tsuzuki T.A., McCormickP., (2007).** « *Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: In-vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation*». 148-154 P.

-**Desai, M. P., Labhasetwar, V., Amidon, G. L., and Levy, R. J., (1996).** «*Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size*». *Pharm Res* **13**, 1838-1845.

-**Elliott D.W., Zhang W.X., (2001).** «*Environmental science & Technology*». 35(24):4922-4926

-**Florence A. T., (1997).** «*The oral absorption of micro- and nanoparticulates: neither exceptional nor unusual*». *Pharm Res* **14**, 259-266P.

-**Hagens W. I., Oomen A. G., de Jong W. H., Cassee F. R., and Sips, A. J., (2007).** «*What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body?*» *Regul Toxicol Pharmacol* **49**, 217-229P.

-**Haranczyk M., Gutowski M., (2005)** « *Finding adiabatically bound anions of guanine through a combinatorial computational approach*». *Angew. Chem. Int.* **44**. 6585P.

-**Hernandezbattez A., (2008).** « *CuO, ZrO2 et de nanoparticules de ZnO comme additif anti-usure dans les lubrifiants de pétrole* ». *wear* **265** :422. doi : 10.1016/j.wear.2007.11.013.

-**Igor P., (2011).** « Etude in vitro la toxicité de nanoparticule métalliques (TiO₂, ZnO, Cds) sur la cible rénale ». Thèses de doctorat. Université Bordeaux Segalen.

-**Jani, P., Halbert, G. W., Langridge, J., and Florence, A. T. (1989).** «*The uptake and translocation of latex nanospheres and microspheres after oral administration to rats*». *J Pharm Pharmacol* **41**, 809-812.

- Janzen Ch., Imhof P., Kleinermanns K., (2001). «*Guanine tautomerism revealed by UV-UV and IR-UV hole burning spectroscopy*». Journal Of Chemical Physics, vol., 115, n°10, 1-8P.
- Jérémié V., (2010). «*Le règlement 1907/2006 CE (Reach)*».33P.
- Joanna M., Miriam Q., Miriam R., (2009) «*les nanoparticules et leurs déchets* » projet de 3ème année 75P.
- Lademann J., Weigmann H. J., Rickmeyer C., Barthelmes H., Schaefer H., Mueller G., Sterry W.,(1999). «*Penetration of titanium dioxide micro particles in a sunscreen formulation into the horny layer and the follicular orifice*».
- Luther W., (2004) «*Industrial application of nanomaterials-chance and risks. Technical report, future technolos of VDI Technologiezentrum*».
- Marie. A., (2014). «*Nanoparticules et santé des applications aux risques potentiels* ».Thèse de doctorat, U .F .R des sciences pharmaceutiques, Université de bordeaux ,14P.
- Mavon A., Miquela C., Lejeune O., Payre B., Moretto P., (2007). «*In-vitro percutaneous absorption and in vivo stratum corneum distribution of an organic and a mineral sunscreens*» 10-20.
- Méchachfi F., (2010). «*Etude Théorique De Molecules Polymerisables Par Ouverture De Cycle*». Mémoire de magister, Université d'el hadj lakhder batna ,16P.
- Mélanié A., (2007). «*Nanoparticules d'oxydes métalliques : relations enter la réactivité de surface et des réponses biologiques*». Thèse De Doctorat,Univercité Paul Cézanne Aix Marseille,III,165P
- Mérat-tagnard P., Michiels B., (2008). «*Nanoparticules : un enjeu pour la prévention*». Documents pour le médecin du Travail 115, 399-411.
- Nemmar, A., Vanbilloen, H., Hoylaerts, M. F., Hoet, P. H., Verbruggen, A., and Nemery, B., (2001). «*Passage of intratracheally instilled ultrafine particles from the lung into the systemic circulation in hamster*». Am J Respir Crit Care Med 164, 1665-1668.
- Ophélie Z., (2008). «*Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement*». Thèse de doctorat, Université Paris et Marie, 321P.

-Ostigny C., Lapointe G., Ménard L., Cloutier Y., Trottier H., Proximeduc M.B., Monty A., Normand C., (1980). «*Les nanoparticules : connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en SST* ». L'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST), Paris, 90P.

-Pan Y., Neuss S., Leifert A., Fischler M., Wen F., Simon U., Schmid G., Brandau W., Jahnen-Dechent W., (2007). *Size-Dependent Cytotoxicity of Gold Nanoparticles*. *Small*, vol. 3, 1941-1949P.

-Pan Y., Leifert A., Ruau D., Neuss S., Bornemann J., Schmid G., Brandau W., Simon U., Jahnen-Dechent W., (2009). *Gold nanoparticles of diameter 1.4 nm trigger necrosis by oxidative stress and mitochondrial damage*. *Small*, vol. 5, 2067-2076P.

- Pedro Lopes R., Paula M., Marques M., (2012). «*Guanine: A Combined Study Using Vibrational Spectroscopy and Theoretical Methods*. *Spectroscopy An International Journal*», Vol. 27, n° 5-6, 273-292P.

-Picot A., (2012). «*Les nanoparticules et leurs impacts sur la santé et l'environnement*». ATC, Paris, 23P.

-Sajous L., Botta A., Sari-Minodier I., (2008). «*Dosage de la 8-hydroxy-2' deoxyguanosine dans les urines : un biomarqueur du stress oxydatif d'origine environnementale* ». *Ann Biol Clin*, vol. 66, n° 1, 21-30P.

-Samia S., (2008). «*Etude théorique des interactions intermoléculaires des Phénylurées protonées avec la guanine*». Mémoire de magister, Université d'el hadj lakhder batna , 35-37P.

-Shukla, R.K., Sharma V., Pandey A.K., Singh S., Sultana S. et Dhawan A., (2011). «*ROS mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells*». *Toxicol. In Vitro*, vol. 25, 231-241P.

-Simkhovich B. Z., Kleinman, M. T., and Kloner, R. A. (2008). «*Air pollution and cardiovascular injury epidemiology, toxicology, and mechanisms*». *J Am Coll Cardiol* 52, 719-726.

-Singh N., Manshian B., Jenkins G.J.S., Griffiths S.M., Williams P.M., Maffei T.G.G., Wright C.J. et Doak S.H., (2009). «*NanoGenotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials*». *Biomaterials*, vol. 30, 3891-3914P.

- Sivanesan D., Subramanian V., Unni Nair B., (2001) « *Quantification of reactive sites in dna bases using condensed Fukui functions* ». *Journal of molecular structure (theochem)* 544 123-139.
- Stern, S. T., and McNeil, S. E. (2008). « *Nanotechnology safety concerns revisited*». *Toxicol Sci* 101, 4-21.
- Tinkle S. S., Antonini J.M., Rich B. A., Roberts J.R., Salmen R., Depree K., Adkins E.J., (2003). « *Skin as route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease*».
- Tratnyek, P.G., Johnson R. L., (2006) « *Nanotechnologies for environmental cleanup*». *Nano today*, 1(2):44-48.
- Wang B., Feng W.-Y., Wang T.-C., Jia G., Wang M., Shi J.-W., Zhang F., Zhao Y.-L., and Chai Z.-F., (2006). « *Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice*. *Toxicology Letters*» 161, 115-123.
- Witschger O., Fabries J.F., (2005) « *particules ultra fines et santé au travail Caractéristiques et effets sur la santé*». *Hygiène et sécurité du travail*, 199P.

Produced with Scantopdf

Web graphique

- [1] http://www.senat.fr/rap/r03-293_mono-html Consulté le 13/01/2015.
- [2] «Avancées et limites du règlement REACH –Centre national de ». En ligne. <http://www.cnrs.fr/inc/recherche/docs/desmoulin.pdf>. Consulté le 07/04/2015.
- [3] «insilico_methods ». En ligne. http://www.orchestraqsar.eu/sites/default/files/introductory_lea_flet_on_in_silico_methods_fr.pdf. Consulté le 13/12/2014.
- [4] « Reach-animal-testing » en ligne. http://echa.europa.eu/documents/10162/13630/reach_factsheet_animaltestingfr.pdf. Consulté le 05/01/2015.
- [5] <http://sante-medecine.commentcamarche.net/faq/17106-acide-nucleique-definition> Consulté le 30/12/2014.
- [6] http://fr.wikipedia.org/wiki/Analogue_d%27acide_nucl%C3%A9ique Consulté le 14/02/2015.
- [7] http://www.assistancescolaire.com/eleve/TS/svt/lexique/B-base-azotee-t_tx037 Consulté le 26/02/2015.
- [8] <http://aluminium.hot.lu/alumine> Consulté le 8/11/2014.
- [9] <http://www.goodfellow.com/csp/active/static/F/Alumine.html> Consulté le 8/11/2014.

Produced with ScanTOPDF

RESTIMATE

Résumé

À l'aube du XXI^{ème} siècle, les nanosciences et nanotechnologies promettent des progrès remarquables dans de nombreux domaines, mais soulèvent aussi de nombreuses inquiétudes en particulier au sujet de leurs effets sur la santé humaine et l'environnement. Cette étude a pour objectif d'apporter des éléments de réponse à la compréhension de l'interaction entre une base purique (guanine) et des nanoparticules (Al_2O_3 , ZnO), par des méthodes de calculs (PM3, HF et DFT) pour décrire les propriétés énergétiques, géométrique et spectroscopique (IR), pour la mise en évidence d'effets de l'environnement moléculaire. Dans ce PFE nous avons présenté les opportunités offertes par l'intégration d'informations obtenues *in vitro* dans un modèle Gaussian afin de prédire la toxicodynamique *in silico* des nanoparticules. D'autre part, l'environnement semble susceptible de fragiliser certaines liaisons intramoléculaires comme l'illustre l'apparition de nouvelles bandes vibrationnelles, des déformations géométriques et isomérisation de guanine (tautomérisation). Les résultats obtenus nous ont permis de prédire l'état de transition formé par le transfert du proton et la formation des deux complexes ; qui nous donne à priori une idée sur le potentiel mutationnel qui pourrait être provoqué par les nanostructures.

Mots clés : étude *in silico*, Guanine, nanoparticules (Al_2O_3 , ZnO), Gaussian.

Produced with

المخلص :

مع القرن الواحد والعشرين للعلوم النانوية والتكنولوجيا النانوية شهدت هذه الأخيرة تقدماً كبيراً في العديد من المجالات غير أنها تثير العديد من المخاوف وخاصة فيما يتعلق في تأثيراتها السلبية على صحة الإنسان والبيئة. وتهدف هذه الدراسة إلى تقديم أجوبة على أهم التفاعلات التي تتم بين القاعدة البيورينية (الجوانين) والجسيمات النانوية (أكسيد الألمونيوم ، أكسيد الزنك) من خلال الطرق الحسابية (حدودي الطريقة 3 - المهارتري-فوك و النظرية الوظيفية للكثافة) لوصف الخصائص الطاقوية الهندسية والطيفية للأشعة تحت الحمراء للكشف عن الآثار المترتبة على البيئة الجزيئية. في الدراسة النهائية للمشروع قدمنا الفرص التي تتيحها دمج المعلومات والتي تم الحصول عليها من قبل نموذج جوسيون للتنبؤ في سيليكون وديناميات السموم النانوية ومن ناحية أخرى ، فالبيئة تؤثر على بعض الروابط الداخلة جزيئية كما يتضح ذلك في ظهور بعض الذبذبات الجديدة والتشوهات الهندسية للجوانين (توتوميغيزاسيون) وقد سمحت النتائج التي تم التوصل إليها أن نتوقع الحالة الانتقالية التي شكلها نقل البروتون مما يعطينا فكرة مسبقة بشأن إمكانية طفرة التي يمكن أن تسببها النانو.

الكلمات المفتاحية : الجوانين ، الجسيمات النانوية (أكسيد الألمونيوم ، أكسيد الزنك).

Abstract :

At the early turning of this of century, » Nanoscience and Nanotechnologies have reached significant progress in many areas, but many important issues and concerns are raised with regard to their harmful effects on both the environment and human health. This study aims to provide answers to make an understanding of the interaction between a Purine Base (guanine) and partial nanoparticles (Al_2O_3 , ZnO), by methods of calculations (PM3, HF and DFT) to describe energy properties, geometric and spectroscopic (IR), for the detection of effects of the molecular on the environment. In this PFE we present the opportunities offered by the integration of information obtained in Vitro in a Gaussian model to predict in Silico Toxicodynamics Nanoparticles. On the other hand, the environment seems likely to weaken some intramolecular bonds as illustrated by the emergence of new vibrational bands, geometric deformations and guanine isomerization (tautomerization). The results obtained ultimately have allowed us to predict the transition state formed by proton transfer and training of two complexes; which give us prior idea on the mutational potential that could be caused by nanostructures.

Keywords: In Silico Study, Nanoparticles (Al_2O_3 and ZnO) Guanine, Gaussian.

Produced with Scantopdf

Annexe

Produced With ScantOPDF

Annexe 1 : Les fréquences vibrationnelles de la Guanine.

Méthode	Les fréquences vibrationnelles						
PM3	-46.4642	137.9003	203.7429	325.082	394.4926	396.9352	
	530.2089	598.0881	654.2527	709.7789	731.2899		
	741.6353	742.5463	778.3166	845.5182	884.2128		
	913.7987	943.9872	990.5483	1041.6797	1087.8574		
	1159.4523	1243.6475	1293.296	1334.9256	1348.4995		
	1392.2353	1557.7117	1576.3922	1592.8266	1636.8135		
	1709.0985	1791.963	1832.4605	1905.5921	1931.1852		
	1995.3742	3339.4937	3623.6571	3670.5793	3688.3118		
	3753.2783						
	HF	200.1838	245.4906	320.8895	350.6767	366.0189	
380.5042		442.625	503.6295	562.0018	567.5967	632.9631	
679.079		702.4233	710.125	766.6815	820.9045	857.4282	
861.1257		932.2662	1013.5873	1022.2909	1046.2798		
1067.6811		1096.7662	1138.8061	1207.5323	1303.2606		
1349.4539		1401.0075	1424.6552	1461.748	1520.6035		
1586.5682		1640.3099	1668.9787	1807.0352	1895.6747		
3223.9248		3828.4296	3869.9526	3976.6787	4014.4468		
DFT		124.6379	140.5748	213.3338	325.2594	364.1196	
		398.9234	403.567	537.9735	582.5804	633.031	688.3124
	696.3469	722.3676	730.5403	785.7952	819.3539		
	859.3966	911.6018	944.4178	1028.0976	1055.1182		
	1152.0933	1186.3338	1198.7539	1265.6485	1296.7376		
	1458.6463	1489.3362	1530.0772	1549.8437	1598.5063		
	1723.9913	1756.8104	1799.1934	1823.5113	1853.1725		
	2035.3313	3419.9336	3841.0756	3854.6405	3903.5915		
	3993.9266						

Produced by

Annexe 2 : Les fréquences vibrationnelles de la Guanine- N7.

Méthode	Les fréquences vibrationnelles
PM3	-1890.3094 -1261.632 -177.4655 105.5197 160.605 255.7699
	299.1882 304.421 334.1579 350.3457 368.7281 493.6096
	513.555 562.8923 628.7831 678.0461 709.36 753.3861
	790.967 806.9077 860.3907 906.1545 924.9082 1018.2869
	1064.9691 1132.859 1147.5574 1165.978 1246.5326
	1345.2969 1384.452 1426.1665 1497.2977 1521.844
	1566.2804 1594.9491 1607.2357 1657.2678 1673.2016
	1840.1164 1861.3525 2475.4633 3794.029 3837.7048
	3884.5532 3909.2257 3935.3358 4448.0004
HF	-168.9737 73.6606 148.4233 231.8343 287.3842 347.1416
	356.5615 413.2368 527.8583 538.2378 587.4995 653.1947
	689.7808 699.8574 713.3216 732.7404 788.9917 816.9934
	890.3566 917.765 983.5207 1146.8186 1173.8994 1189.6321
	1206.6068 1248.3465 1277.0043 1318.0927 1343.4679
	1478.2133 1516.6354 1530.742 1594.875 1649.4651
	1662.0056 1747.7728 1809.0154 1817.3522 1833.3919
	1862.0302 1996.3553 2839.2353 3256.5179 3804.7121
	3814.9953 3841.7946 3893.2456 3940.9491
DFT	14.1051 143.4228 207.9232 279.2662 309.2579 369.9655
	373.5637 530.736 573.136 589.2603 640.5283 680.3956
	693.555 716.1245 744.7651 760.8481 827.9637 873.3012
	925.6325 948.5105 978.6341 1112.7733 1126.451 1185.2179
	1218.4316 1242.4545 1264.1992 1303.3449 1316.1088
	1443.05 1488.4783 1537.8417 1566.0938 1608.6443
	1669.9661 1718.85 1757.5469 1767.9942 1816.4331
	1860.9251 1881.3823 2845.1566 3121.4675 3619.5399
	3646.9009 3652.4762 3709.4841 3733.391

Produce

Annexe 3 : Les fréquences vibrationnelles de la Guanine-O10.

Méthode	Les fréquences vibrationnelles
PM3	-721.864 -537.4172 -461.3242 -262.2948 100.2365 183.2399
	256.9622 321.3875 386.8979 430.2505 465.9044 493.4043
	545.1598 579.4877 604.5961 645.4394 704.0461 776.7343
	813.6756 895.1219 916.586 946.1198 1075.4781 1081.9711
	1100.8699 1130.92 1155.7613 1202.3129 1255.5798
	1296.0718 1434.952 1508.6773 1543.4214 1550.5399
	1594.5318 1762.5074 1898.2362 1947.9799 2048.7365
	2083.4711 2815.6722 2963.3513 3166.7563 3188.4209
	3226.0393 3279.7501 3548.09 3736.9232
HF	-479.7869 -294.9941 -250.4211 -214.6247 166.3881 269.0372
	304.4333 365.0319 418.9133 532.1431 596.9926 626.4689
	689.5415 703.8155 745.6594 767.2893 815.644 851.4029
	933.8885 992.2951 1009.1806 1022.3713 1078.3973
	1138.8819 1207.7167 1319.0515 1355.8213 1447.7856
	1514.9915 1527.8888 1567.2585 1640.3791 1676.9378
	1758.2897 1843.4088 1905.4278 1965.9755 2019.0232
	2101.3711 2171.1 2197.6685 2887.1559 3184.7938 3211.6211
	3237.2025 3286.4371 3561.3608 3738.3016
DFT	-722.027 -537.239 -461.1062 -262.2589 100.3035 183.2183
	256.9187 321.4381 386.9097 430.188 465.9197 493.3374
	545.1093 579.5063 604.6159 645.4156 704.0308 776.7468
	813.5175 895.138 916.5968 946.0735 1075.4325 1082.0634
	1100.6721 1130.889 1155.8254 1202.4875 1255.5994
	1296.0831 1434.9869 1508.7451 1543.3717 1550.5424
	1594.5148 1762.5889 1898.3196 1948.0236 2048.8014
	2083.5031 2815.3959 2963.3241 3166.9994 3188.9848
	3225.3923 3279.8893 3548.5094 3737.1446

Produced by

Annexe 4 : Les fréquences vibrationnelles de la Guanine-Al₂O₃.

Méthode	Les fréquences vibrationnelles						
PM3	-444.509	-176.2379	91.8843	148.5108	195.4274	209.1798	
	260.251	301.2533	378.4086	390.1446	412.1615	484.6619	
	522.2744	538.6724	612.7428	649.3318	713.0109	727.2647	
	752.1677	755.9584	819.9154	871.675	882.0539	901.1581	
	996.5162	1005.323	1091.211	1104.0376	1127.1655	1174.4758	
	1187.9302	1261.0969	1266.763	1354.3425	1375.7902	1421.207	
	1553.0677	1580.1056	1593.5334	1670.636	1728.8674	1751.6284	
	1824.2778	1882.5285	1904.1099	2061.4803	2236.9056		
	2246.9229	2893.8175	2919.7511	3188.7303	3237.8713		
	3287.3987	3656.6452					
	HF	-546.8316	-516.6488	-454.1214	-373.4687	-233.5072	-50.7028
		14.5807	113.5383	336.0044	348.4364	394.0441	443.9983
		488.7654	517.0147	590.1662	601.394	629.6424	685.9593
727.3131		761.8077	776.2953	924.6641	932.4148	1040.2502	
1081.5619		1090.1206	1178.2669	1178.7674	1244.6563		
1291.0369		1375.3095	1482.3312	1503.5331	1506.8698		
1560.4523		1681.1891	1725.2853	1766.8952	1821.8454		
1929.6429		2022.6088	2051.9439	2090.6266	2236.8639		
2243.3723		2292.4112	2491.4908	2829.8955	2835.3829		
2874.2475		3184.8564	3215.2438	3242.9718	3285.681		
DFT		-381.0698	-328.2313	-193.3795	-62.7611	96.4906	153.7356
		240.8347	278.1743	379.196	414.0775	524.3949	545.7675
		617.9072	640.9838	663.1642	688.7214	709.4891	772.0769
	798.9835	802.376	846.3328	851.1936	923.2154	959.9822	
	1032.2182	1092.0737	1120.9862	1195.7832	1207.4701		
	1300.0199	1321.9786	1395.2176	1453.9	1497.3529	1621.7723	
	1708.7442	1842.0317	1873.5467	1969.658	1980.4949	2049.4135	
	2153.4589	2173.5301	2223.6221	2237.1229	2259.0036		
	3043.4896	3139.3231	3190.4257	3217.9416	3290.2536		

Annexe 5 : Les fréquences vibrationnelles de la Guanine-ZnO

Méthode	Les fréquences vibrationnelles
PM3	-706.2167 -680.8923 -467.978 -426.2587 -310.7467 -242.4429 - 230.9291 -154.5497 95.8634 134.4058 222.8258 270.8972 327.7784 343.0148 410.7194 468.1849 486.1527 525.9749 549.0126 579.0305 664.1333 682.4195 719.0194 809.2434 872.2432 888.505 912.5305 951.5643 1011.0269 1028.5868 1057.5199 1164.9471 1188.7098 1209.3238 1308.3416 1412.4037 1471.8177 1571.9797 1762.3428 1795.8086 1900.6917 2008.5031 2154.2116 2232.684 2828.7528 2851.0634 2856.5971 2867.8164 2982.2889 3118.6927 3180.244
HF	-1440.9371 -915.4673 -885.8984 -545.9621 -457.2573 -365.0027 - 265.663 -239.8097 -168.5144 78.5013 275.1452 329.1753 436.9404 509.2933 573.9744 617.4861 636.84 701.9332 795.7241 804.1308 805.1277 843.6223 916.663 993.0725 1035.5294 1164.4069 1178.8765 1236.5079 1513.0383 1575.0625 1639.5653 1697.1156 1723.4045 1856.6827 1946.3868 1985.3415 2112.9557 2162.4014 2677.4143 3163.5487 3241.6751 3402.9892 3470.8046 3606.5172 4445.27
DFT	-706.2167 -680.8923 -467.978 -426.2587 -310.7467 -242.4429 - 230.9291 -154.5497 95.8634 134.4058 222.8258 270.8972 327.7784 343.0148 410.7194 468.1849 486.1527 525.9749 549.0126 579.0305 664.1333 682.4195 719.0194 809.2434 872.2432 888.505 912.5305 951.5643 1011.0269 1028.5868 1057.5199 1164.9471 1188.7098 1209.3238 1308.3416 1412.4037 1471.8177 1571.9797 1762.3428 1795.8086 1900.6917 2008.5031 2154.2116 2232.684 2828.7528 2851.0634 2856.5971 2867.8164 2982.2889 3118.6927 3180.244

Produce