



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité/Option : Qualité des produits et Sécurité Alimentaire

Département de biologie

Thème : L'évaluation de la toxicité des parabènes (cas du butylparabène) par une approche *in silico* (Relation Quantitative Structure-Activité-QSAR)

Présenté par :

- MOUAS Naima
- OUMEDDOUR Amira
- ZOUAZ Houda

Devant le jury composé de :

Présidente	: SOUIKI Lynda	professeur	Université de Guelma
Examinatrice	: BENREBIHA Roumaila	M.A.A	Université de Guelma
Encadreur	: DJEKOUN. Mohamed	M.C.A	Université de Guelma

Juin 2016

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier « Dieu » le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

*En second lieu, nos reconnaissances, nos vives gratitude et nos sincères remerciements vont à Madame la présidente : **SOUIKI Lynda** et Madame l'examinatrice **BENREBIHA Roumaila** pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur **Mr. DJEKOUN Mohamed**, maitre de conférence au département de biologie à l'université de Guelma, pour l'orientation, la confiance et la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.*

*Un profond respect et un remerciement particulier pour **Besma, Ahlem et Zeyneb** pour la bonne contribution de ce travail.*

Amira, Houda, Naïma

Liste des figures

N° : Figure	Titres	Pages
Fig : 1	Structure générale d'un parabène	1
Fig : 2	L'interface de QSAR	17
Fig : 3	Les six modules de QSAR toolbox	17
Fig : 4	Module Chemical Input avec l'identité de la substance cible	18
Fig : 5	Les différentes méthodes de profilage	19
Fig : 6	Les données du devenir dans l'environnement, de l'écotoxicité et de la toxicité	20
Fig : 7	Les méthodes de regroupement des produits chimiques	20
Fig : 8	Les trois différents outils des données de remplissage des lacunes	21
Fig : 9	Le rapport	22
Fig : 10	Butylparabène (poudre cristalline)	25
Fig : 11	Les différents produits de consommation	27
Fig : 12	Évaluation de la toxicité de la cible chimique par la méthode de Cramer	28
Fig : 13	Classification de la toxicité du C ₁₁ H ₁₄ O ₃ par la méthode de Cramer	30
Fig : 14	L'interaction du butylparabène avec le récepteur d'œstrogène	31
Fig : 15	La valeur de logP, le poids moléculaire et l'affinité ERB de C ₁₁ H ₁₄ O ₃ par la méthode QSAR	31
Fig : 16	Descripteur (logP) de prédiction sur la base de test ERBA	32

Liste des tableaux

N° : Tableaux	Titres	Pages
Tab : 1	Noms et formules chimiques des principales molécules de la famille des parabènes	2
Tab : 2	Identification des parabènes par dénomination internationale, numéro de CAS et n° d'additif alimentaire	3
Tab : 3	Caractéristiques physico-chimiques des parabènes	4
Tab : 4	Les propriétés physico-chimiques du butylparabène	26

Liste des abréviations

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation et de l'Environnement et du travail.

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament.

APHB : Acide *Para*-HydroxyBenzoïque.

ARN_m : Acide Ribonucléique Messenger.

BuP : Butylparabène.

BzP : Benzylparabène.

CE : Commission Européenne.

CEE : Commission des Experts Européenne.

CMR : Cancérogène Mutagène Reprotoxique.

C_{H2O} : Concentration d'eau.

C_{octanol} : Concentration d'octanol.

D : Démontions.

DJA : Dose Journalière Admissible.

EFSA : European Food Safety Authority.

ER : Estrogen Receptor.

ER_α : Estrogen Receptor Alpha.

ER_β : Estrogen Receptor Beta.

ERBA: Estrogen Receptor Binding Affinity.

ER-RBA : Estrogen Receptor-Relative Binding Affinity.

EtP : Ethylparabène.

E218 : Additif Alimentaire Appelé Méthylparabène.

E214 : Additif Alimentaire Appelé Èthylparabène.

E216 : Additif Alimentaire Appelé Propylparabène.

g/mol : Gramme par mole.

HAS : Hyaluronic Acid Synthase.

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

i-BuP : iso-Butylparabène.

IC50 : Concentration Inhibitrice médiane.

INCI : Inventaire National des Ingrédients Cosmétiques.

i-PrP : Iso-Propylparabène.

Les 3R: Remplacement, Réduction et Raffinement.

Log Kow (logP) : coefficient de Partage octanol /eau.

MeP : Méthylparabène.

ug/l : microgramme par litre.

mg : milligramme.

mg/kg : milligramme par kilogramme.

mg/L : milligramme par Litre.

ng/g : nanogramme par gramme.

n° : numéro.

N° CAS : Number of Chemical Abstract Service.

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques.

Pa : Pascale.

PBPK : Physiologically Based Pharmacokinetic.

PE : Perturbateurs Endocriniens.

PFE : Projet de Fin d'Etude.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

pKa: logarithm négatif de la constante d'ionisation (KA) d'un acide.

PM : Poids Moléculaire.

PrP : Propylparabène.

QSAR : Quantitative Structure Activity Relationship.

REACH : Registration Evaluation and Autorisation of Chemicals.

RSA : Relations Structure Activité.

RSAQ : Relations Structure-Activité Quantitatives.

SAR: Structure-Activity Relationship.

SMILES: Système Simplifié Moléculaire Entrée de l'Information en Ligne.

T° : Température.

°C : Degré Celsius.

Sommaire

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

CHAPITRE I : LES PARABÈNES

	PAGE
1. Description des parabènes.....	1
2. L'identification des parabènes.....	3
3. Propriétés physico-chimiques des parabènes.....	3
4. L'origine des parabènes.....	5
5. Mode d'action des parabènes.....	5
6. Utilisation et consommation des parabènes.....	6
6.1. Cosmétique.....	6
6.2. Alimentaire.....	7
6.3. Pharmaceutique.....	7
6.4. Autre utilisations.....	8
7. Le cadre réglementaire des parabènes.....	8
7.1. Les additifs alimentaires.....	8
7.2. Les cosmétiques.....	8
7.3. Les médicaments.....	9
8. La toxicité des parabènes.....	9

8.1. Effets irritants.....	9
8.2. Effets hormonaux (perturbation endocrinienne).....	10
8.2.1. Activité œstrogénique.....	10
8.2.2. Activité androgénique.....	11
8.3. Effet cancérogène.....	11
9. Le Règlement REACH	12
10. Les méthodes <i>in silico</i>	12
10.1. Les avantages des méthodes <i>in silico</i>	13
10.1.1. Réduire les tests sur les animaux.....	13
10.1.2. Réduire les coûts et les délais.....	13
10.1.3. Permettre de tester un grand nombre de substances chimiques.....	13
10.1.4. Augmenter la quantité des informations.....	13

**CHAPITRE II : LES MODÈLES QSAR (QUANTITATIVE
STRUCTURE ACTIVITY RELATIONSHIP)**

1. Généralité.....	15
2. Définitions et principes du QSAR.....	15
3. QSAR ToolBox.....	16
3.1. L'interface de la boîte à outils (QSAR Toolbox).....	16
3.2. Flux de travail.....	17
3.2.1. Chemical Input (Entrée des produits chimiques).....	18
3.2.2. Profiling (Profilage).....	19
3.2.3. Endpoint (Critères d'évaluation).....	19
3.2.4. Category definition (Définition de la catégorie).....	20

3.2.5. Data Gaps Filling (Comblant les lacunes des données).....	20
3.2.6. Report (Rapport).....	22
3.3. Les descripteurs moléculaires.....	22
3.3.1. Les descripteurs 1D.....	23
3.3.2. Les descripteurs 2D.....	23
3.3.2.1. Les indices constitutionnels.....	23
3.3.2.2. Les indices topologiques.....	23
3.3.3. Les descripteurs 3D.....	23
3.3.4. Descripteurs 4D.....	24

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel.....	25
1.1. Choix de substance à tester.....	25
1.2. Description et propriétés physico-chimiques du butylparabène.....	25
1.3. Domaines d'utilisation du butylparabène.....	26
2. Méthodes.....	27
2.1. Test de Cramer (Arbre de décision).....	27
2.2. Test d'affinité de liaison avec le récepteur d'œstrogène (ERBA).....	28
2.3. Coefficient de partage Octanol/eau lopP.....	29

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Résultat.....	30
2. Discussion	33

Conclusion.

Référence bibliographique.

Web graphie.

Résumé.

الملخص

Abstract.

Annexe.

Introduction générale

Les conservateurs constituent un thème récurrent d'interrogations et de débats. A Chaque fois que ce thème est abordé, de nombreux consommateurs associent ces substances à des produits chimiques dangereux. Ils sont omniprésents : se trouvent dans les aliments, les produits cosmétiques et les médicaments.

Parmi les conservateurs les plus employés on distingue les parabènes qui sont considérés d'une part comme des conservateurs idéaux grâce à Leur large spectre d'activité antimicrobienne et antifongique, et d'autre part comme des conservateurs douteux, pouvant interférer avec l'organisme et mimer l'effet de l'œstradiol.

Aujourd'hui, les parabènes restent malgré tout un point de discordance parmi les scientifiques. Ils sont soupçonnés d'être des perturbateurs endocriniens qui peuvent se lier aux récepteurs cellulaires de la même façon que les œstrogènes.

Les perturbateurs endocriniens sont donc largement couverts par la réglementation «**REACH**» (Registration Evaluation and Autorisation of Chemicals) pour évaluer leurs toxicité, mais les effets (**CMR**) « Cancérogène Mutagène Reprotoxique » doivent encore être définis de manière précise et détectés par des tests validés.

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) à chaque fois que possible, les tests sur les animaux. **REACH** fournit de ce fait des possibilités d'utiliser des méthodes alternatives d'évaluation ainsi que les données existantes. Les méthodes *in silico* constituent un grand pas en avant.

Les méthodes *in silico* se réfèrent à l'utilisation de modèles mathématiques, réalisés à L'aide d'outils informatiques, pour évaluer l'impact d'une substance sur l'organisme. Ces méthodes doivent servir à recueillir des informations suffisamment pertinentes pour réduire le recours à l'animal telles que les outils **QSAR** (Quantitative Structure Activity Relationship).

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

L'objectif scientifique : vise à améliorer la connaissance actuelle des parabènes 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 que les tests traditionnels.

L'objectif d'amélioration des gestions : vise à exploiter les résultats de ce **PFE** en fournissant des recommandations destinées à améliorer la sécurité de ces substances (parabènes).

Afin de présenter l'étude menée en ce sens, le présent manuscrit s'articule en deux parties : l'une bibliographique et l'autre est consacrée à l'application de la boîte à outil (**QSAR**).

Dans la partie bibliographique :

- Le premier chapitre est consacré à l'état d'art concernant des informations générales sur les parabènes, le cadre réglementaire et la toxicologie prédictive.
- Le deuxième chapitre est quant à lui dédié à une présentation condensée sur les modèles **Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR : Relation Quantitative Structures-Activité)**.

Dans la partie d'application, se présente le test d'évaluation prédictive concernant le potentiel œstrogénique (le teste **ERBA**) d'un produit chimique non testé.

Chapitre 1

1. Description des parabènes

Le terme "parabène" (ou paraben en anglais) ou *para*-hydroxybenzoates, sont des esters de l'Acide *Para*-Hydroxybenzoïque (**APHB**), dont la compression du mot a donné leur nom courant. La famille de molécules s'articule autour d'un même squelette chimique. Celui-ci est constitué d'un cycle unique aromatique, d'un groupement hydroxyle et d'un groupement ester en position *para* du cycle comme le montre la **figure 1 (Haman, 2014)**.

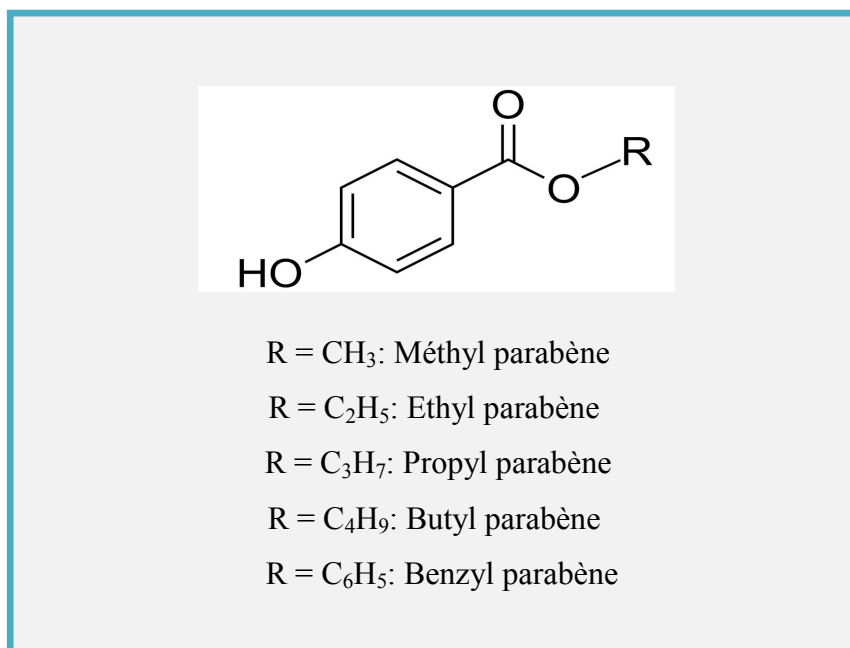
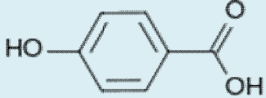
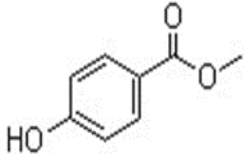
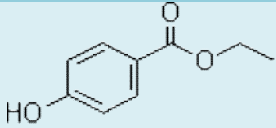
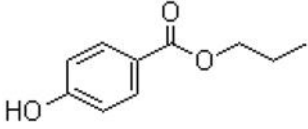
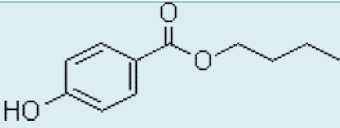
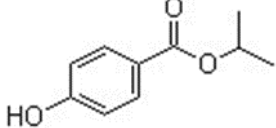
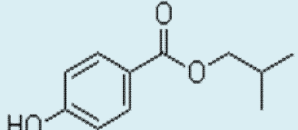
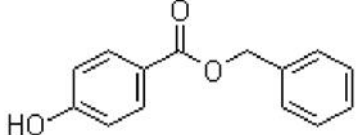


Figure 1 : Structure générale d'un parabène ; -R est un groupe alkyle. [1]

Les molécules diffèrent entre elles grâce à la longueur de la chaîne alkyle. Leurs noms, ainsi que leurs formules, sont présentés dans le **tableau 1**. Ils peuvent être classés en deux catégories. La première est celle des parabènes à chaîne dite « courte » et comprend les **Méthylparabène (MeP)** et **Ethylparabène (EtP)**. La seconde est celle des parabènes à chaîne dite « longue » et englobe les **Propylparabène (PrP)**, **Isopropylparabène (i-PrP)**, **Butylparabène (BuP)**, **Isobutylparabène (i-BuP)** et **Benzylparabène (BzP) (Haman, 2014)**.

Tableau 1 : Noms et formules chimiques des principales molécules de la famille des parabènes (Haman, 2014).

Nom	N° CAS	Formule chimique	Formule développée
Acide p-Hydroxybenzoïque	99-96-7	$C_7H_6O_3$	
Méthylparabène / 4-hydroxybenzoate de méthyle	99-76-3	$C_8H_8O_3$	
Ethylparabène / 4-hydroxybenzoate d'éthyle	120-47-8	$C_9H_{10}O_3$	
Propylparabène / 4-Hydroxybenzoate de propyle	94-13-3	$C_{10}H_{12}O_3$	
Butylparabène / 4-hydroxybenzoate de butyle	94-26-8	$C_{11}H_{14}O_3$	
Isopropylparabène	4191-73-5	$C_{10}H_{12}O_3$	
Isobutylparabène	4247-02-3	$C_{11}H_{14}O_3$	
Benzylparabène / 4 hydroxybenzoate de benzyle	94-18-8	$C_{14}H_{12}O_3$	

Les parabènes constituent en fait une famille d'ingrédients. Ils sont assez proches mais différents par leurs structures chimiques (notamment par la longueur de leur chaîne alkyle), par leur spectre d'action comme par leurs effets indésirables potentiels. Ils peuvent être utilisés seuls ou en mélange pour accroître leurs actions et leurs efficacités (Soni *et al.*, 2005).

2. L'identification des parabènes

Dans le domaine de l'industrie alimentaire, les seuls parabènes autorisés sont les méthylparabènes, éthylparabènes, propylparabènes et leurs sels. Leurs numéros de CAS (Chemical Abstract Service) et N° d'additif alimentaire sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Identification des parabènes par dénomination internationale, numéro de CAS et n° d'additif alimentaire (Mussard, 2006).

Dénomination Internationale	Numéro CAS	N° d'additif alimentaire
Méthylparabène	CAS n° [99-76-3]	E 218
Ethylparabène	CAS n° [120-47-8]	E 214
Propylparabène	CAS n° [94-13-3]	E 216
Isopropylparabène	CAS n° [4191-73-5]	
Butylparabène	CAS n° [94-26-8]	
Isobutylparabène	CAS n° [4247-02-3]	
Benzylparabène	CAS n° [94-18-8]	

Dans la littérature, les méthylparabènes, éthylparabènes et propylparabènes sont commercialisés respectivement sous le nom de Nipagine M, Nipagine A et Nipasol.

Pour identifier les parabènes dans un produit, on utilise la Chromatographie en milieu Liquide à Haute Performance (HPLC) (Mussard, 2006).

3. Propriétés physico-chimiques des parabènes

Les parabènes se présentent comme des petits cristaux incolores ou des poudres cristallines blanches, inodores et insipides (ou possèdent un léger goût de brûlé) (Soni *et al.*, 2002). Le tableau 3 résume les principales propriétés physico-chimiques des parabènes.

Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques des parabènes
(Peterson *et al.*, 2007).

Caractéristiques	APHB	MeP	EtP	PrP	BuP	BzP
Poids moléculaire (g/mol)	138,12	152,15	254,38	180,21	194,23	228,24
Point de fusion (°C)	213	131	117	97	68,5	110
Point d'ébullition (°C)	250	275	297,5	285,14	300,26	-
Pression de vapeur à 25°C (Pa)	-	0,114	0,0123	0,0409	0,0334	-
Solubilité dans l'eau à 25°C (mg/L)	5000	2500	885	500	207	160
Log K_{ow}	-	1,96	2,47	3,04	3,57	3,61
pKa	2,7	8,31	8,31	8,23	8,22	8,37

Les molécules de la famille des parabènes sont faiblement solubles dans l'eau. En revanche, ces molécules sont extrêmement solubles dans les solvants tels que les alcools, l'acétone et l'éther. La solubilité décroît lorsque la longueur de la chaîne alkyle s'allonge. Dans l'industrie agroalimentaire, les sels de sodium dérivés des parabènes sont préférentiellement utilisés en raison de leur meilleure solubilité dans l'eau (Radovan *et al.*, 2008).

Le coefficient de partage octanol-eau ($\log K_{ow}$) augmente en fonction de l'accroissement de la longueur de la chaîne alkyle. Il permet d'évaluer l'accumulation possible des molécules dans les tissus vivants.

Les valeurs de pKa oscillent entre 8,22 et 8,37 selon les parabènes. Le pH de l'eau étant en général de l'ordre de 7, les parabènes se trouvent sous leur forme acide dans ce milieu.

La pression de vapeur saturante à 25°C largement inférieure à 100 Pa montre que les parabènes sont des composés très peu volatils.

Les points d'ébullitions des parabènes sont assez élevés. Ceci montre une certaine stabilité des molécules (Nguyen *et al.*, 2005). Ils sont stables à une température de cuisson habituelle des aliments, et ils ne seraient donc pas dénaturés lors de leur utilisation en cuisine (Soni *et al.*, 2005).

Les points de fusions différents pour chaque parabène permettent de les identifier (Nguyen *et al.*, 2005).

Les parabènes sont stables dans l'air et résistants à l'hydrolyse et aux solutions acides. L'allongement de la chaîne alkyle augmente la résistance à l'hydrolyse (Soni *et al.*, 2005). En revanche, ils s'hydrolysent dans des solutions alcalines et à un pH supérieur à 7 (Soni *et al.*, 2002).

4. L'origine des parabènes

Les parabènes sont généralement synthétiques, mais existent également à l'état naturel dans certains aliments. Les produits de l'abeille (propolis, gelée royale...) en sont particulièrement riches, mais c'est également le cas de fruits et légumes comme l'orge, la fraise, le cassis, la pêche, la carotte, l'oignon, les haricots blancs, la vanille..., et aussi dans des aliments préparés à partir de plantes, comme les jus de raisins et d'autres fruits, les extraits de levure, le vinaigre de vin et également les fromages.

On les trouve naturellement comme précurseur du Coenzyme Q10 dans le corps humain et plus particulièrement dans celui de la femme (Parson *et al.*, 1965).

5. Mode d'action des parabènes

Malgré le fait qu'on utilise les parabènes depuis plus de 50 ans, leur mécanisme d'action n'est toujours pas complètement élucidé (Nguyen *et al.*, 2005).

Les parabènes agissent effectivement comme un xéno-œstrogène (Routledge *et al.*, 1998), c'est à dire comme une hormone de synthèse qui affecte le fonctionnement et la réponse hormonale du corps humain (Byford *et al.*, 2002).

Dès 1998, des études *in vitro* s'intéressant aux mécanismes d'action des parabènes ont mis en évidence leur capacité à se lier aux récepteurs des œstrogènes (hormones sexuelles femelles) et à les activer. Cette activité œstrogénique est proportionnelle à la longueur des chaînes alkyles des différents parabènes [2].

Les parabènes sont actifs vis-à-vis d'un grand nombre de micro-organismes. Ils agissent sur les deux phases de leur développement : germinative et végétative dont la phase de germination est beaucoup plus sensible aux parabènes que la croissance végétative des champignons ou bactéries (Soni *et al.*, 2005).

Ils interagissent avec les voies métaboliques clés et leur efficacité étant plus importante vis-à-vis des levures et des moisissures que vis-à-vis des bactéries. Les bactéries à Gram+ sont cependant plus sensibles aux parabènes que celles à Gram –

dont lesquelles les parabènes vont les tuer de façon irréversible : c'est ce qu'on appelle une action bactéricide [3].

Les parabènes présentent de multiples actions biologiques, mais ils sont généralement admis que leurs effets sur le transport à travers la membrane cellulaire et la paroi cellulosique, et sur le fonctionnement des mitochondries, sont la clé de leur action (Soni *et al.*, 2005).

Le mode d'action présumé des parabènes serait lié à la fixation de ces derniers à la surface de la membrane cytoplasmique des bactéries, ce qui provoquerait une altération et une destruction de cette membrane. Ils en résulteraient une fuite extracellulaire des électrolytes et des constituants vitaux de la bactérie, qui se viderait littéralement de son contenu.

Au niveau du cytoplasme, les parabènes agissent en provoquant une perturbation de la respiration cellulaire (effet inhibiteur sur la consommation d'oxygène), du transport des électrons et des systèmes enzymatiques d'oxydation (Mussard, 2006).

6. Utilisation et consommation des parabènes

Les parabènes sont aujourd'hui utilisés comme agent conservateur pour prévenir l'intégrité, la saveur, la qualité de produits à cause de leurs propriétés antifongiques et antimicrobiennes (Nguyen *et al.*, 2005).

De plus, leur faible toxicité, leur large spectre d'activité (sur les bactéries, levures, moisissures et champignons), leur bonne stabilité chimique (vis-à-vis du pH et de la température), leur biodégradabilité et leur faible coût en font des conservateurs très employés dans différents secteurs tels que les cosmétiques, la pharmacie ou encore l'agroalimentaire (Soni *et al.*, 2005).

6.1. Cosmétique

Les parabènes sont actuellement utilisés dans 80 % des formulations cosmétiques à cause de leur efficacité antimicrobienne (même à de très faibles doses), en conséquence, ils se retrouvent appliqués sur différentes parties du corps comme la peau, les cheveux ou encore les muqueuses (Soni *et al.*, 2005).

Six parabènes sont fréquemment retrouvés dans les cosmétiques. Suivant la longueur croissante de la chaîne alkyle, ils apparaissent sur l'étiquette dans la déclaration officielle de la composition d'un cosmétique de la façon suivante : méthylparabène, éthylparabène,

propylparabène, isopropylparabène, butylparabène, isobutylparabène, et les plus particulièrement utilisés : le méthyl et le propyl-parabène [4].

Dans les années 1980, une étude a montré que les parabènes étaient présents dans tous les types de cosmétiques soit environ 13200 formules différentes tels que: autobronzants, déodorants, produits d'hygiène buccodentaire, produits capillaires, produits de soin pour bébé, maquillage, soins pour la peau, produits de rasage et épilatoire, vernis à ongles et gels hydroalcooliques (**Maurus, 2015**).

6.2. Alimentaire

Les parabènes sont ajoutés aux aliments depuis plus de 50 ans et leur emploi s'est progressivement étendu. Les parabènes les plus utilisés mondialement dans ce domaine sont le méthylparabène, l'éthylparabène et le propylparabène (**Soni et al., 2005**).

Cependant dans le monde, les industries alimentaires utilisent les parabènes comme conservateurs pour de nombreux produits, tels que : les sauces salades, sauces épicées, pâtisseries, moutardes, œufs de poisson, conserves de poisson, crèmes, gelées, produits lactés surgelés, jus de fruits, mayonnaises, sirops, viandes hachées, jambons, gâteaux, glaçages, garnitures, boissons sucrées, pâtes, confitures, condiments et olives (**Routledge et al., 1998**).

Afin de pallier aux risques de contamination, une combinaison de parabènes est souvent utilisée. En effet, associés les uns aux autres, les parabènes augmentent leur capacité antimicrobienne (**Corre et al., 2009**).

6.3. Pharmaceutique

L'utilisation des parabènes en pharmaceutique a débuté dans les années 1900. Depuis, ils sont utilisés comme conservateurs dans de nombreuses formulations de médicaments à cause de leurs effets bénéfiques dans le domaine de la santé (**Soni et al., 2005**). Globalement, il s'agit dans 70 % des cas de formes administrées par voie orale (formes liquides de type sirop ou solides de type comprimé) et 13 % des cas de formes par voie cutanée. Les concentrations efficaces utilisées dans les formes orales sont comprises entre 0,01 et 0,1 % en fonction du type de parabène (**Marque, 2014**).

L'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (**ANSM**), a identifié une liste de 400 médicaments contenant des parabènes dont 306 contiennent du propylparabène. Le Vidal 2005 nous a permis de dénombrer 656 médicaments dont le système conservateur comporte un ou plusieurs parabènes, parmi lesquels « des crèmes comme la Biafine, de nombreux sirops contre la toux (Clarix, Drill, Humex, Pectosan, Rhinathiol), des pansements

gastriques (Maalox, Gaviscon), des traitements des troubles du transit intestinal (Motilium) ou des nausées et vomissements (Primpéran) , les formes en suspension buvable de médicaments cardiovasculaires (Cozaar, Vastarel) ou antibiotiques (Josacine, Zinnat), des médicaments contre la douleur et la fièvre (formes génériques d'ibuprofène et de paracétamol), les traitements de l'asthénie (Sargenor) ». Cette liste n'est pas accessible au grand public [5] , [6].

6.4. Autres utilisations

En dehors de ces trois principaux secteurs d'utilisation, d'autres applications des parabènes existent de manière plus marginale.

Selon l'ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du travail), ils peuvent être utilisés comme conservateur dans les produits du tabac, dans certains produits ménagers (lessives) et entrent dans la formulation de vernis, colles, adhésifs et cirages [6].

7. Le cadre réglementaire des parabènes

7.1. Les additifs alimentaires

L'emploi des parabènes est autorisé en Europe par la directive 95/2/CE du 20 Février 1995 comme additif alimentaire. Cette directive du Parlement Européen et du Conseil est spécifique, découlant de la directive cadre 89/107/CEE concernant les additifs pouvant être employés dans les denrées alimentaires [4].

Des Experts de la Commission Européenne (CEE) et Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) ont alors défini en 2004 la Dose Journalière Admissible (DJA) comme étant « de 0 à 10 mg par kilo de poids et par jour » pour le méthylparabène, l'éthylparabène et leur sels [4].

Cependant, le propylparabène (additifs E 216-217) n'a pas pu être inclus dans cette DJA groupée en raison de récentes études démontrant ses effets sur certains paramètres reproducteurs chez le rat. [4]

7.2. Les cosmétiques

Le nombre de substances inscrites à l'Inventaire National des Ingrédients Cosmétiques (INCI) est vaste, mais d'après l'arrêté du 6 février 2001, l'acide p-hydroxybenzoïque, ses sels et esters sont réglementés [4].

L'AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé) à indiquer, dans son évaluation de risque sur les parabènes dans les cosmétiques de décembre 2005, que : "la commission de cosmétologie s'est prononcée favorablement à la poursuite de l'utilisation, aux conditions prévues par la réglementation actuelle, de 4 des 5 parabènes les plus couramment utilisés (méthyl, éthyl, propyl et butyl parabènes)" [4].

Il est utile de préciser que pour le propylparabène, la commission de cosmétologie s'est montrée favorable à la poursuite de l'utilisation de ce conservateur sous réserve que des études complémentaires soient réalisées et permettent de confirmer l'absence de risque aux conditions d'utilisation dans les produits cosmétiques [4].

7.3. Les médicaments

Les parabènes sont utilisés en tant qu'excipients dans les médicaments dans le but d'éviter la contamination microbiologique et d'empêcher la dégradation du ou des principe(s) actif(s). Le méthylparabène est également employé comme agent plastifiant dans certains médicaments. Il permet de diminuer la température vitreuse et ainsi de ramollir le médicament pour faciliter son extrusion (Haman, 2014).

Les parabènes sont donc des produits très utilisés, consommés, volontairement ou non. De plus, force est de constater que les législateurs ont du mal à se prononcer sur les dangers de ces substances par manque de preuves scientifiques [4].

8. La Toxicité des parabènes

8.1. Effets irritants

Les parabènes sont des substances bien tolérées par l'organisme mais peuvent provoquer des réactions cutanées. D'après Fischer, l'application de parabènes favoriserait l'entrée d'allergènes sur une peau déjà lésée. En 1996, Fischer a mis en évidence que la peau traumatisée ou couverte d'eczéma est plus sensible aux parabènes comme à d'autres allergènes. On peut donc en conclure que les parabènes peuvent être allergisants et irritants chez des personnes ayant des maladies ou des infections au niveau cutané [7].

Une étude a été menée sur des kératinocytes en 2007. C'est le méthylparabène qui a été testé. Selon l'étude, le méthylparabène diminue l'expression de l'ARN messager de la HAS (Hyaluronic Acid Synthase) 1 et 2 et du collagène de type IV. La modification de concentration de ces composés naturels de la peau serait responsable d'un changement de conformation des kératinocytes entraînant une incapacité pour ces cellules de proliférer. Or, la

peau est en constant renouvellement. L'incapacité pour la peau de se renouveler entraîne inexorablement une irritation cutanée (**Ishiwatari et al., 2007**).

Peu de publications illustrent la toxicité de contact des parabènes dans la littérature. En effet, il arrive que ceux-ci entraînent des irritations de la peau ou des dermatites allergiques consécutives à l'application cutanée de formulations contenant des parabènes (**Haman, 2014**).

8.2. Effets hormonaux (Perturbation endocrinienne)

Les perturbateurs endocriniens sont des molécules organiques d'origines diverses qui ont la propriété d'agir sur les équilibres hormonaux. Ils peuvent agir de plusieurs manières. Une polémique a éclaté suite à la publication d'études démontrant le potentiel des parabènes quant à cette activité de perturbateur endocrinien. En effet, ils auraient la capacité de générer une activité œstrogénique et d'influencer sur la fonction de reproduction masculine (**Maurus, 2015**).

8.2.1. Activité œstrogénique

Au début des années 2000, des études *in vitro* sur des modèles cellulaires ont mis en évidence que les parabènes pouvaient « mimer » les propriétés des œstrogènes [8].

Les œstrogènes sont des hormones stéroïdiennes impliquées dans de nombreuses fonctions. Elles se lient à des récepteurs spécifiques pour activer des cellules cibles. Il existe deux récepteurs canoniques, les récepteurs alpha (ER_{α}) et les récepteurs beta (ER_{β}). L'œstradiol est un œstrogène qui, une fois fixé à son récepteur, active certaines fonctions, comme par exemple la prolifération des cellules mammaires. Certaines molécules sont reconnues pour être capables de se fixer sur les récepteurs des œstrogènes et agir comme agoniste ou antagoniste. La cellule cible peut alors être activée ou inhibée dans des conditions non physiologiques.

Les parabènes ont été testés pour connaître leur potentielle affinité avec ces récepteurs à l'œstradiol (**Maurus, 2015**). Leur structure cyclique les rapproche de celle de l'œstradiol. En conséquence, il est possible que les parabènes agissent sur des procédés liés au cycle des œstrogènes [4].

Plusieurs études *in vitro* (Tavares et al., 2009) ont montré qu'ils étaient capables de se lier aux récepteurs à œstrogènes, d'activer les gènes contrôlés par ces récepteurs, de stimuler la croissance cellulaire et d'augmenter le niveau de protéines réceptrices aux œstrogènes. Cela explique l'effet œstrogénique mis en évidence par plusieurs études (**Tavares et al., 2009**).

Une étude a été menée en 2005 par Gomez *et al*. Ils ont testé l'affinité de différentes molécules aux deux récepteurs principaux qui sont ER $_{\alpha}$ et ER $_{\beta}$ sur des lignées cellulaires. L'observation principale revient au butylparabène et au propylparabène qui sont les deux substances ayant le plus d'affinité avec le récepteur ER $_{\alpha}$ par comparaison avec tous les autres parabènes. Alors que d'autres molécules n'ont aucune affinité pour les récepteurs (**Gomez *et al.*, 2005**). Donc il existe bel et bien une compétitivité possible entre les parabènes et l'œstradiol pour l'affinité avec ses récepteurs ER $_{\alpha}$ et ER $_{\beta}$. Elle reste cependant très faible (**Maurus, 2015**).

Le butylparabène est celui qui présente la plus forte toxicité, toutefois 10 000 fois moins puissant que le 17 β –œstradiol [9].

En effet, la présence d'un groupement alcool en para sur le cycle aromatique est considérée comme une condition importante pour observer un effet œstrogénique (**Oishi, 2002**).

8.2.2. Activité androgénique

Des effets toxiques du propylparabène et du butylparabène sur la sécrétion hormonale et sur les fonctions de reproduction mâle ont été mis en évidence chez le jeune rat, par voie sous-cutanée et par voie orale. Les études ont été réalisées à des doses susceptibles d'être compatibles avec les expositions humaines et suggèrent un risque potentiel pour la fertilité masculine. Au contraire, les méthylparabènes et éthylparabènes n'entraînent pas d'effets secondaires à ce niveau.

C'est le butylparabène qui montre le plus grand potentiel vis-à-vis des effets sur le système de reproduction mâle, ce qui est en adéquation avec les résultats des tests œstrogéniques (**Mussard, 2006**).

8.3. Effet cancérigène

On l'a vu, les parabènes ont la capacité de se fixer sur les récepteurs des œstrogènes et de les activer. L'œstradiol joue un rôle très important dans la prolifération des cellules mammaires. Lorsqu'un cancer se déclare, les cellules se multiplient en se différenciant. Les premières cellules cancéreuses se multiplient mais sont encore différenciées et possèdent toujours leurs récepteurs. On peut alors imaginer que les parabènes peuvent venir se fixer à ces récepteurs et activer la prolifération de ces cellules cancéreuses. Afin d'éclaircir ce point, des scientifiques ont mené des expérimentations diverses.

Dans une étude de 2004 (Darbre *et al.*, 2004), ils sont suggérés qu'un lien entre le cancer du sein et les parabènes contenus dans les cosmétiques applicables sous les aisselles de type déodorants existe. En effet, différentes études citées dans cette publication indiquent que les parabènes diffusent très bien à travers la peau. Ceux-ci seraient capables de s'accumuler de façon intacte dans les tissus. Darbre *et al* mettent en évidence la présence de parabènes dans de nombreux cosmétiques sans rinçage. Les parabènes contenus dans les déodorants ne se rincent pas, ils pourraient alors s'accumuler au niveau de la glande mammaire, sur la partie haute, là où les cancers du sein se déclenchent le plus couramment. Dans cette étude, vingt tumeurs mammaires sont analysées, la concentration moyenne en parabènes retrouvées dans les tissus était de 20,6 ng/g de tissu (Darbre *et al.*, 2004).

Il faut souligner que cette étude ne prétend pas conclure que les parabènes sont responsables de cancers du sein. La détection d'un composé dans un tissu ne peut être source de causalité (Mussard, 2006).

9. Le règlement REACH

Le règlement **REACH** (**R**egistration, **E**valuation and **A**utorisation of **C**hemicals) entré en vigueur le 1er juin 2007 en Europe, se propose de répertorier et de constituer un rapport de sécurité concernant les dangers des substances chimiques, afin de mieux en maîtriser les risques pour la santé et l'environnement.

Cette réglementation prévoit explicitement des limitations spéciales pour les **PE** (**P**erturbateurs **E**ndocriniens) : les substances avec des propriétés endocriniennes qui ont, d'après les résultats scientifiques, des effets potentiellement graves sur la santé ou l'environnement. Ainsi, de telles substances ne pourront être mises en circulation qu'après une évaluation des risques et des avantages socio- économiques.

Un autre aspect important de **REACH** est la règle des **3R** (**R**éduire, **R**affiner et **R**emplacer) pour l'expérimentation animale. De cette façon, **REACH** et la directive 86/609/CEE encouragent l'utilisation de méthodes alternatives comme les méthodes *in vitro* et *in silico*, autant de nouveaux outils de toxicologie prédictive (Claude, 2009).

10. Les méthodes *in silico*

Les méthodes *in silico* désignent les modèles biomathématiques des bases de données issues des expérimentations *in vitro*. 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 absorbé / repense 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 (QSAR/PBPK par exemple) 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 [10].

10.1. Les avantages des méthodes *in silico*

10.1.1. 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 ordinateur. Cela diminue la souffrance des animaux ainsi que la quantité de déchets chimiques occasionnés par des tests supplémentaires en laboratoire [10].

10.1.2. 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.

10.1.3. Permettre de tester un grand nombre de substances chimiques

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

Les méthodes *in silico* deviennent de ce fait importantes, et dès maintenant avec REACH, lorsque qu'il s'agit d'évaluer des inventaires entiers de substances chimiques plutôt que quelques substances prioritaires [10].

10.1.4. 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 [10].

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 parabènes. Ce type de tests permet de rationaliser et de prioriser les tests de toxicité à réaliser, coûteux en temps et financièrement, et d'en réduire le nombre. Sur base d'un modèle **Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR)**, on prédit la toxicité de parabènes. Néanmoins, l'utilisation d'une telle méthode *in silico* n'en n'est encore qu'à ses débuts. En outre, les effets *in vivo* (potentiels) des parabènes sont trop complexes pour pouvoir être déterminés à l'aide de modèles informatiques, qui dépendent des prévisions basées sur des groupes de substances ayant un mécanisme susceptible d'être similaire (**Puzyn et al., 2011**).

Chapitre II

1. Généralité

Les chercheurs sont désormais contraints de travailler à différents niveaux d'investigation des vivants. Les méthodes alternatives *in vitro* font appel aux tests de laboratoires sur des composants d'origine biologiques (cellules, protéines ...) et les méthodes *in silico* se réfèrent à l'utilisation de modèles mathématiques réalisés à l'aide d'outils informatique, pour évaluer l'impact d'une substance sur l'organisme.

Ces méthodes doivent servir à recueillir des informations suffisamment pertinentes pour réduire le recours à l'animal. On parle des modèles **QSAR** (Quantitative Structure Activity Relationship) (Chibani *et al.*, 2014).

La découverte d'une telle relation permet de prédire les propriétés physiques et chimiques et l'activité biologique de composés, de développer de nouvelles théories ou de comprendre les phénomènes observés. Elle permet également de guider les synthèses de nouvelles molécules, sans avoir à les réaliser, ou à analyser des familles entières de composés (Goulon, 2008).

Les modèles **QSAR** font le corollaire entre, d'une part, les propriétés et la structure moléculaire d'une substance chimique et, d'autre part, ses effets biologiques sur la santé humaine et /ou sur les espèces dominantes d'un écosystème. La corrélation peut ensuite servir de prédiction et l'évaluation des effets de nouvelles substances (Chibani *et al.*, 2014).

2. Définitions et principes du QSAR

Le terme de **Relation Structure-Activité (RSA)** décrit la relation existante entre structure chimique et activité pharmacologique pour une série de composés (Wermuth *et al.*, 1998). Elles ont été abondamment utilisées dans les industries pharmaceutiques, chimiques et cosmétiques, tout particulièrement pour la conception rationnelle de nouveaux principes actifs et de nouvelles entités chimiques (Frédéric, 2011).

En terminologie anglo-saxonne, on utilise le terme de **Structure-Activity Relationship** ou **SAR**. Le vocable « **RSA** » recouvre en fait différentes approches, allant de simples considérations de similarité ou de diversité des molécules à l'établissement de relations mathématiques liant la structure chimique à une activité mesurable (Frédéric, 2011).

S'il existe des relations mathématiques reliant la structure chimique à l'activité pharmacologique de manière quantitative pour une série de composés, on parlera de **Relations Structure-Activité Quantitatives (RSAQ, quantitative SAR ou QSAR)** (Wermuth *et al.*, 1998).

Les relations quantitatives de structure-activité (**Q**) **SAR** sont des méthodes pour estimer les propriétés d'un produit chimique à partir de sa structure moléculaire et ont le potentiel de fournir des informations sur les dangers des produits chimiques, tout en réduisant les délais, les coûts et les essais sur animaux actuellement nécessaires [11].

3. QSAR ToolBox

La boîte à outils est une application logicielle destinée à être utilisée par les gouvernements, l'industrie chimique et d'autres parties prenantes pour combler les lacunes en matière de données d' (éco) toxicité nécessaires pour évaluer les risques des produits chimiques. La boîte à outils intègre des informations et des outils provenant de diverses sources dans un flux logique. Pour ce flux, il est indispensable de regrouper les produits chimiques dans des catégories chimiques.

Les caractéristiques marquantes de la boîte à outils sont les suivantes :

- Identification des caractéristiques structurelles pertinentes et du mécanisme ou mode d'action potentiel d'un produit chimique cible.
- Identification d'autres produits chimiques qui ont les mêmes caractéristiques structurelles et/ou mécanisme ou mode d'action.
- Utilisation des données expérimentales existantes pour combler la ou les lacunes en matière de données. [12]

3.1. L'interface de la boîte à outils (QSAR Toolbox)

L'interface du **QSAR** Toolbox est conçue pour suivre le flux de travail typique pour prédire le(s) critère(s) d'un produit chimique donnée (nom d'un produit chimique cible). Il représente les six principaux stades du flux de travail (**Chemical Input, Profiling, Endpoint, Category Definition, Data Gap Filling et Report**) sur une barre d'outils (1), qui est située sur la partie la plus haute de la fenêtre du programme (**figure 2**). En dessous de la barre d'étapes il y a une autre barre d'outils : la barre d'actions (2). Elle fournit des mesures les plus importantes, qui sont liées à l'étape actuelle. Sur la partie gauche de la fenêtre principale est le panneau des options de scène (3). Il propose des contenus spécifiques pour la scène et des actions liées à ce contenu actuel. La plus grande partie de la forme principale est occupée par la matrice de données (4). Elle est disponible dans toutes les étapes, à l'exception du rapport et montre les données interrogées, à la fois expérimentale et prédit pour les produits chimiques chargés dans le système (**Chibani et al., 2014**).

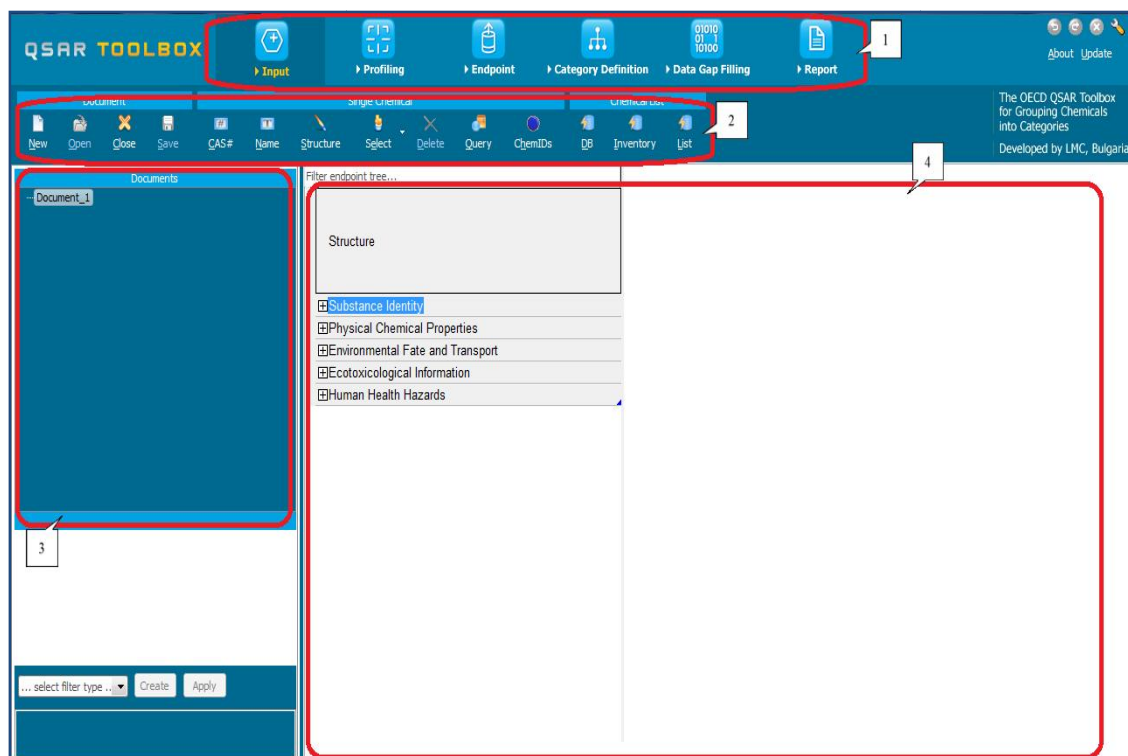


Figure 2 : L'interface de QSAR.

3.2. Flux de travail

La boîte à outils fournit un flux de travail (workflow) permettant à l'utilisateur de naviguer à partir de l'entrée des produits chimiques via la collecte des données expérimentales. Il existe six modules (figure 3) de flux de travail (workflow), clairement visibles sur l'interface du programme (Chibani *et al.*, 2014).

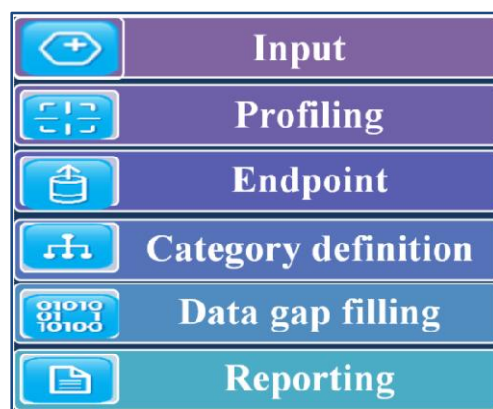
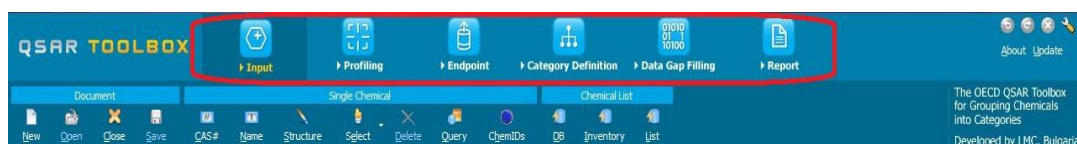


Figure 3 : Les six modules de QSAR toolbox.

3.2.1. Chemicals Input (Entrée des produits chimiques)

Ce module permet à l'utilisateur avec plusieurs moyens de pénétrer le produit chimique cible (1) sur laquelle il applique les fonctionnalités de la boîte à outils [13].

Ainsi on peut définir le produit chimique cible par son nom chimique, numéro de CAS (Chemical Abstract Service) ou SMILE (Système Simplifié Moléculaire Entrée de l'Information en Ligne) (Chibani *et al.*, 2014).

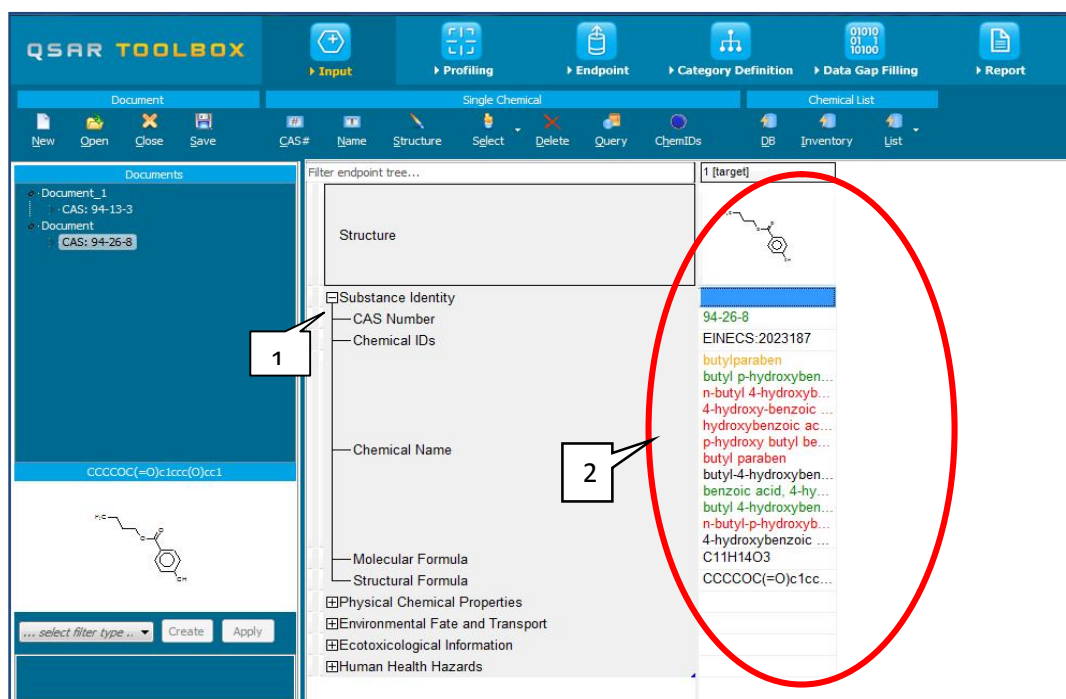


Figure 4 : Module Chemical Input avec l'identité de la substance cible.

Un code de couleur (2) indique la fiabilité de l'identificateur de produit chimique :

- **Vert** : Il existe une grande fiabilité entre l'identifiant et la structure. Cette couleur est attribuée si l'identifiant est identique dans plusieurs bases de données de qualité assurée.

- **Jaune** : Il ya seulement une fiabilité modérée entre l'identifiant et la structure. La couleur est attribuée si l'identifiant est identique dans plusieurs bases de données pour lequel le contrôle de la qualité n'a pas pu être établi.

- **Rouge** : Il ya un manque de fiabilité entre l'identifiant et la structure .La couleur est attribuée si l'identificateur est alloué à des structures différentes dans différentes bases de données.

- **Bleu** : Il ya un conflit entre les relations. [13]

3.2.2. Profiling (Profilage)

Le profilage « **Profiling** » se réfère au processus électronique de récupérer les informations pertinentes sur le composé cible, autre que le devenir dans l'environnement, les données sur l'écotoxicité et la toxicité, qui sont stockées dans la base de données **QSAR Toolbox**.

Avec le module « **Profiling** », l'utilisateur peut récupérer des informations sur la base de l'identité du produit chimique ou sa structure.

La boîte à outils contient actuellement une grande liste de méthodes de profilage (**figure 5**) (profileurs) qui identifient l'appartenance à des catégories définies précédemment, en prenant en compte ou non les métabolites observés ou prévus [13].

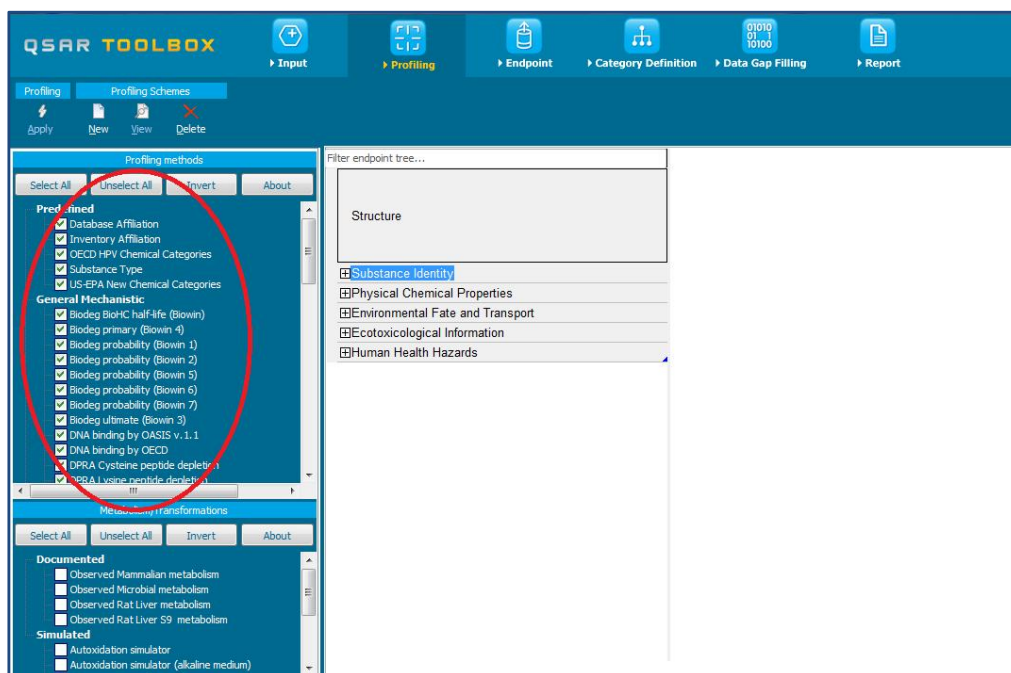


Figure 5 : Les différentes méthodes de profilage.

3.2.3. Endpoint (Critères d'évaluation)

« **Endpoint** » se réfère au processus électronique et de récupérer les données du devenir dans l'environnement, de l'écotoxicité et de la toxicité (**figure 6**) qui sont stockés dans la boîte à outils.

La collecte de données peut être exécuté d'une manière globale (c'est-à-dire collecter toutes les données pour tous Endpoint) ou sur une base plus étroite (par exemple, la collecte de données pour un nombre unique ou limité de paramètres) [13].

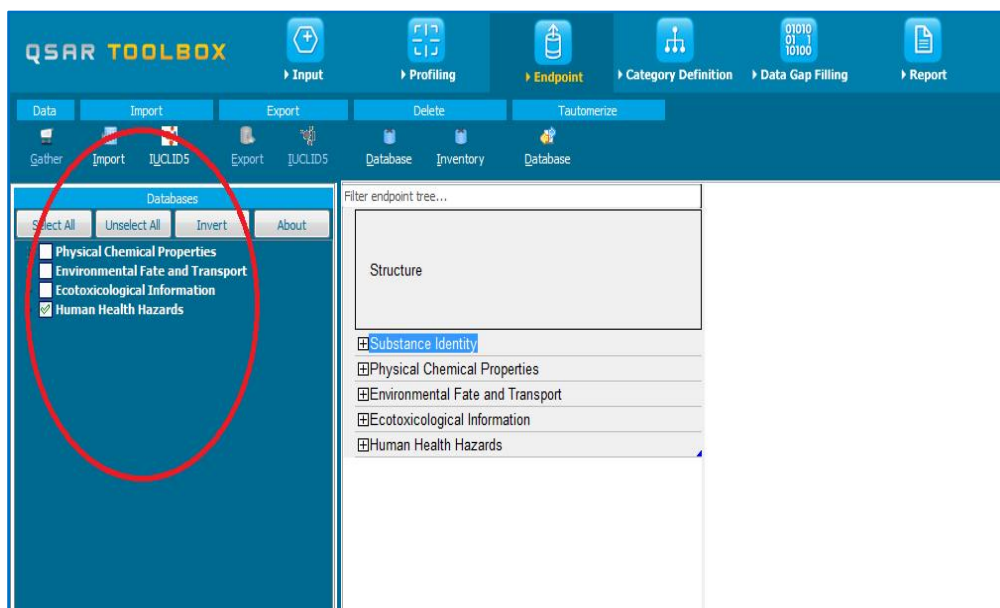


Figure 6 : Les données du devenir dans l'environnement, de l'écotoxicité et de la toxicité.

3.2.4. Category definition (Définition de la catégorie)

Ce module fournit à l'utilisateur des méthodes de regroupement (figure 7) de plusieurs produits chimiques dans une catégorie sur le plan toxicologique significatif qui comprend la molécule cible selon différentes mesures de la "similarité" [13].

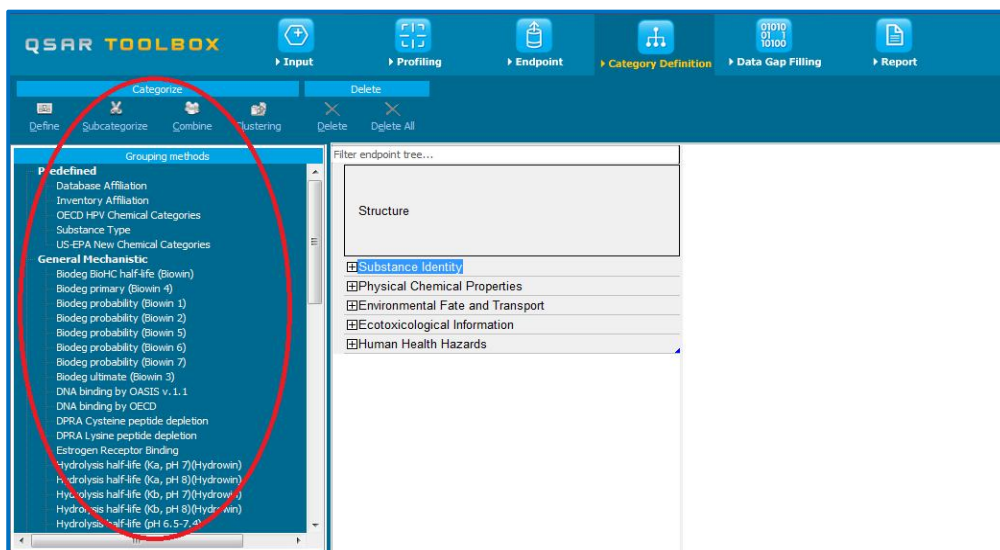


Figure 7: Les méthodes de regroupement des produits chimiques.

3.2.5. Data Gaps Filling (Comblant les lacunes des données)

Le module de remplissage des lacunes des données « Data Gaps Filling » a pour objectif de donner l'accès à trois différents outils des données de remplissage des lacunes (figure 8):

- Read-across
- L'analyse des tendances
- Modèles QSAR

Les références croisées (**Read-across**) et l'analyse des tendances utilisent les données expérimentales disponibles dans la matrice pour combler une lacune de données. Les modèles(**Q**) SAR donnent accès à une bibliothèque de modèles externes (**Q**) SAR qui ont été intégrés dans la boîte à outils [13].

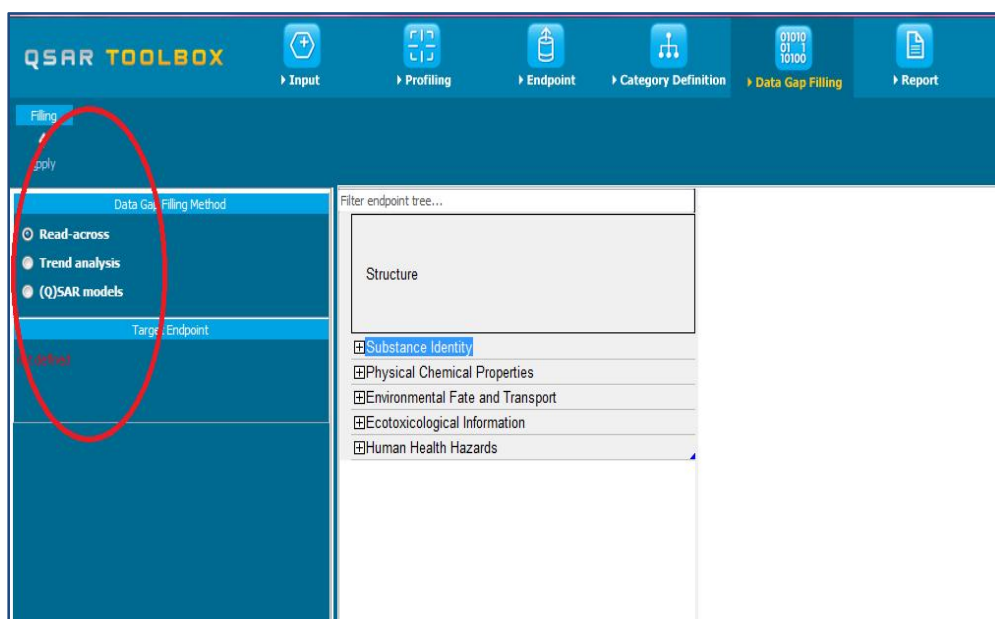


Figure 8 : Les trois différents outils des données de remplissage des lacunes.

Selon la situation, le mécanisme de l'écart de données le plus pertinent doit être choisi en tenant compte des considérations suivantes :

- Read-across, qui extrapole pour un produit chimique non testé à partir de produits chimiques testés au sein d'une catégorie.
- Analyse des tendances, estimant un produit chimique non testé à partir d'une "tendance" (augmentation, diminution ou constant) en vigueur au sein d'une catégorie.
- (**Q**) SAR modèles permettant d'estimer les valeurs manquantes à partir d'un modèle statistique pour une catégorie. [14]

3.2.6. Report (Rapport)

En utilisant le module « **Rapport** », l'utilisateur peut générer des rapports (**figure 9**) sur l'une des prédictions réalisées avec la boîte à outils. Cette dernière contient des modèles de rapports prédéfinis ainsi qu'un éditeur de modèle avec lequel les utilisateurs peuvent développer et définir leurs propres modèles [14].

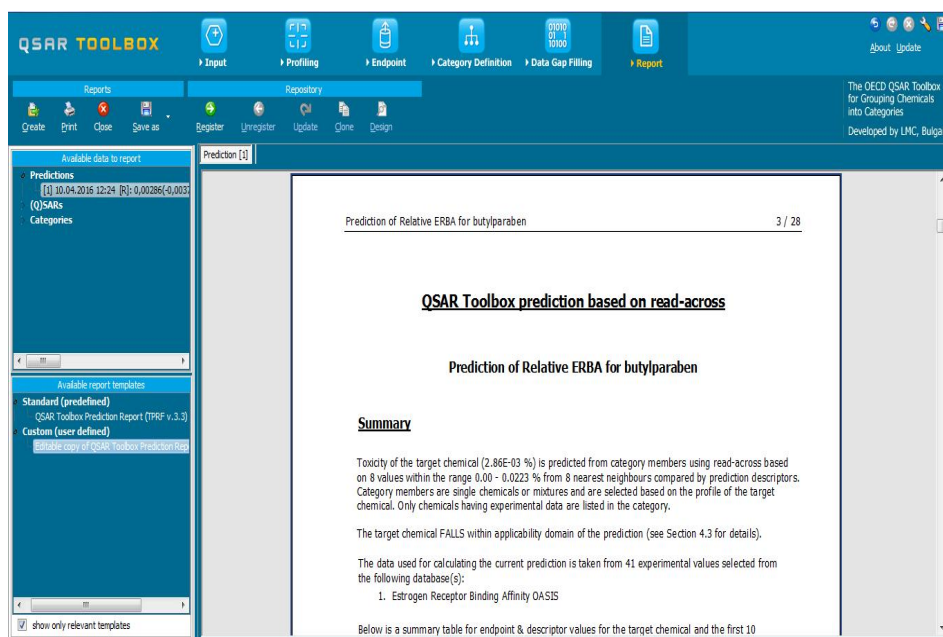


Figure 9 : Le rapport.

3.3. Les descripteurs moléculaires

De nombreuses recherches ont été menées, au cours des dernières décennies, pour trouver la meilleure façon de représenter l'information contenue dans la structure des molécules, et ces structures elles-mêmes, en un ensemble de nombres réels appelés descripteurs ; une fois que ces nombres sont disponibles, il est possible d'établir une relation entre ceux-ci et une activité moléculaire, à l'aide d'outils de modélisation classique. Ces descripteurs numériques réalisent de ce fait un codage de l'information chimique en un vecteur de réels. On en dénombre aujourd'hui plus de 3000 types, qui quantifient des caractéristiques physico-chimiques ou structurales de molécules. Ils peuvent être obtenus de manière empirique ou non-empirique, mais les descripteurs calculés, et non mesurés, sont à privilégier : ils permettent en effet d'effectuer des prédictions sans avoir à synthétiser les molécules, ce qui est un des objectifs de la modélisation. Il existe cependant quelques descripteurs mesurés : il s'agit généralement de données expérimentales plus faciles à mesurer

que la propriété ou l'activité à prédire (coefficient de partage eau-octanol, polarisabilité, ou potentiel d'ionisation) (Hansch *et al.*, 1995).

Avant toute modélisation, il est nécessaire de calculer ou de mesurer un grand nombre de descripteurs différents, car les mécanismes qui déterminent l'activité d'une molécule sont fréquemment mal connus. Il faut ensuite sélectionner parmi ces variables celles qui sont les plus pertinentes pour la modélisation (Goulon, 2008).

3.3.1. Les descripteurs 1D

Sont accessibles à partir de la formule brute de la molécule (par exemple C_6H_6O pour le phénol), et décrivent des propriétés globales du composé. Il s'agit par exemple de sa composition, c'est-à-dire les atomes qui le constituent, ou de sa masse molaire. On peut remarquer que ces descripteurs ne permettent pas de distinguer les isomères de constitution (Goulon, 2008).

3.3.2. Les descripteurs 2D

Sont calculés à partir de la formule développée de la molécule. Ils peuvent être de plusieurs types :

3.3.2.1. Les indices constitutionnels : caractérisent les différents composants de la molécule. Il s'agit par exemple du nombre de liaisons simples ou multiples, du nombre de cycles...

3.3.2.2. Les indices topologiques : peuvent être obtenus à partir de la structure 2D de la molécule, et donnent des informations sur sa taille, sa forme globale et ses ramifications.

Ces descripteurs 2D reflètent bien les propriétés physiques dans la plupart des cas, mais sont insuffisants pour expliquer de façon satisfaisante certaines propriétés ou activités, telles que les activités biologiques. Des descripteurs, accessibles à partir de la structure 3D des molécules, ont pu être calculés grâce au développement des techniques instrumentales et de nouvelles méthodes théoriques (Goulon, 2008).

3.3.3. Les descripteurs 3D : sont évalués à partir des positions relatives de ses atomes dans l'espace, et décrivent des caractéristiques plus complexes; leurs calculs nécessitent donc de connaître, le plus souvent par modélisation moléculaire empirique, la géométrie 3D de la molécule. Ces descripteurs s'avèrent donc relativement coûteux en temps de calcul, mais apportent davantage d'informations, et sont nécessaires à la modélisation de propriétés ou d'activités qui dépendent de la structure 3D.

3.3.4. Descripteurs 4D : ils correspondent à la mesure des propriétés 3D (potentiel électrostatique, d'hydrophobicité et de liaison hydrogène) d'une molécule en tout point de l'espace (**Muller, 2013**).

Chapitre III

1. Matériel

1.1. Choix de substance à tester

Nous avons choisi un seul ingrédient de médicaments, de cosmétiques et des additifs alimentaires [15]. La substance a été sélectionnée sur deux critères : leur présence dans notre environnement proche (pharmaceutiques et cosmétiques...) et leur effets sur les hormones (perturbateurs endocriniens) soupçonnés, principalement d'après des études réalisées (*in vivo* et/ou *in vitro*).

1.2. Description et propriétés physico-chimiques du butylparabène

Le butylparabène ou Paraoxybenzoate de butyle est une poudre cristalline blanche et inodore comme le montre la **figure (10)**, de formule chimique $C_{11}H_{14}O_3$ [16]. Il est préparé par l'estérification de l'acide p-hydroxybenzoïque avec du 1-butanol en présence d'un catalyseur acide tel que l'acide sulfurique [15].



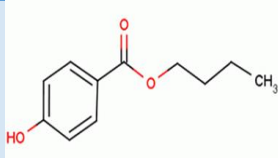
Figure 10 : Butylparabène (poudre cristalline) [17].

Ce produit chimique peut apparaître sous différents noms, y compris :

4-Hydroxybenzoic acid butyl ester, Butyl Parasepl, Preserval b, 4- (butoxycarbonyl)phenol, Butyl butex, p-hydroxybenzoic acid n-butyl ester, Aseptofom butyl, Butyl tegosept, p-Hydroxy butyl benzoate, Butyl phydroxybenzoate, Hydroxybenzoic acid butyl ester, SPF Tegosept B, Butyl-4-hydroxybenzoate, n-Butyl-paraben, Solbrol b, Butoben, n-Butyl p-Hydroxybenzoate, Tegosept butyl, Butyl Chemosept, Nipabutyl [15].

Le tableau suivant présente les propriétés physico-chimiques du butylparabène :

Tableau 4 : Les propriétés physico-chimiques du butylparabène
(Haman, 2014), [16].

Famille chimique	Esters de l'acide parahydroxybenzoïque
Formule éclatée	
Formule chimique	$C_{11}H_{14}O_3$
Numéro de CAS	94-26-8
Apparence	poudre cristalline blanche
Poids moléculaire (g/mol)	194,23
Point de fusion (°C)	68,5
Point d'ébullition (°C)	300,26
Pression de vapeur à 25°C (Pa)	0,0334
Solubilité dans l'eau à 25°C (mg/L)	207
Log K_{ow}	3,47
pKa	8,22

1.3. Domaine d'utilisation du butylparabène

Le butylparabène figure parmi les parabènes largement utilisés comme anti - oxydants et conservateurs dans les aliments (sauces de salade, mayonnaise, sauces épicées, moutarde, produits laitiers congelés et produits cuisinés), les produits pharmaceutiques (oxazepam 10 mg, Loxapine 25 mg et Lescol 20 mg) et cosmétiques (produits pour bébés, manucures préparations, les désodorisants et autres produits de propreté) comme le montre la **figure 11** [15].

Son utilisation comme un conservateur antifongique conserve les produits cosmétiques utilisables pour des périodes plus longues, et son rôle en tant que fluide de suspension dans les médicaments est utile pour modérer la vitesse de libération de produits chimiques dans le corps [18].

Le butylparabène est annoncé dans les crèmes de Clarins, Lancôme, L'Oréal, Vichy et Zoé [20].



Figure 11 : Les différents produits de consommation.

2. Méthodes

2.1. Test de Cramer (Arbre de décision)

La notion d'Arbre de décision recouvre en fait une démarche proposée initialement par Oser et Hall puis complétée par Cramer. Elle consiste à classer un composé de toxicité non connue en répondant à une série de questions, 33 au total, qui portent sur sa structure chimique (**figure 12**). la progression au sein de cet arbre de décision se fait en fonction de la nature de la réponse (oui ou non) jusqu'à un niveau (une branche) qui permet, sous l'hypothèse d'une relation entre la structure et la toxicité orale, de classer les composés en trois classes (**Oser *et al.*, 1977**).

- **La classe I**

Regroupe les substances dont la structure suggère un faible niveau de toxicité orale. Si de plus l'exposition est faible, le niveau de priorité pour des investigations toxicologiques est faible. Si l'exposition est forte, le niveau de priorité sera proportionnel à celle-ci.

- **La classe II**

Est une classe intermédiaire.

- La classe III

Regroupe les substances pour lesquelles la structure suggère une faible présomption de non-toxicité (voire une toxicité possible). Le niveau de priorité des investigations toxicologiques est donc fort, d'autant plus que l'exposition est préjugée importante (Oser *et al.*, 1977).

The screenshot displays the Toxtree v2.6.13 interface. The chemical identifier is CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1. The 'Toxic Hazard' section shows 'Low (Class I)' selected. The 'by Cramer rules' section lists the following rules and their outcomes:

- Q1. Normal constituent of the body **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q2. Contains functional groups associated with enhanced toxicity **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q3. Contains elements other than C,H,O,N,divalent S **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q5. Simply branched aliphatic hydrocarbon or a common carbohydrate **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q6. Benzene derivative with certain substituents **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q7. Heterocyclic **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q16. Common terpene **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q17. Readily hydrolysed to a common terpene **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q19. Open chain **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q23. Aromatic **Yes** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q27. Rings with substituents **Yes** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q28. More than one aromatic ring **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q30. Aromatic Ring with complex substituents **No** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q18. One of the list (see explanation) **No** Class **Low (Class I)** CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1

Figure 12 : Évaluation de la toxicité de la cible chimique par la méthode de Cramer.

2.2. Test d'affinité de liaison avec le récepteur d'œstrogène (ERBA)

La pertinence de l'essai de liaison aux récepteurs des œstrogènes (ER) *in vitro* à l'égard des fonctions biologiques a été clairement démontrée. Les essais de liaison aux ER sont conçus pour détecter les produits chimiques susceptibles de perturber les voies d'activité liées à l'hormone œstrogène.

Le test d'affinité de liaison avec le récepteur d'œstrogène (ERBA) est basé sur l'interaction ligand-récepteur (Cavaillès, 2002). Il classe les produits chimiques comme non liants et liants (faible, modérée et forte) en fonction du poids moléculaire et les caractéristiques structurales [19].

L'expérience de liaison compétitive détermine l'affinité d'une substance à se lier aux **ER** en concurrence avec le 17 β -œstradiol. Cette affinité est quantifiée par le rapport entre la Concentration d'Inhibition (**IC**) de 17 β -œstradiol IC 50 et l'IC 50 du produit chimique testé qui à l'équilibre, inhibe 50 % des liaisons spécifiques du 17 β -œstradiol, et en exprimant le résultat en pourcentage (%) (**Welboren et al., 2009**).

Pour les objectifs du processus de modélisation, l'ensemble de la formation a été divisée en quatre activités varie en fonction du poids moléculaire de la cible. Liants hautement actifs ($200 < \mathbf{PM} \leq 500$), modérée ($170 \leq \mathbf{PM} \leq 200$) des liants faibles ($\mathbf{PM} < 170$) et non liants (inactifs) (**Milen, 2015**).

2.3. Coefficient de partage Octanol/eau (**log P**)

Le transport, le passage à travers les membranes, la bioaccumulation ou encore l'activité pharmacologique d'une molécule peuvent être conditionnés par son partage entre une phase lipidique et une phase aqueuse, c'est-à-dire son caractère hydrophile. Celui-ci peut être quantifié par le coefficient de partage octanol-eau (**Log P**) qui mesure la solubilité différentielle d'un soluté dans ces deux solvants non miscibles (**Taylor, 1990**).

Le Coefficient de partage (**Log P**) correspond le Rapport entre la concentration à l'équilibre d'une substance chimique dans l'octanol et la concentration en cette même substance dans l'eau [21].

$$\mathbf{Log P = \log [C_{\text{octanol}}/C_{\text{H}_2\text{O}}]}$$

Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule [22]. La lipophilie, échelle continue, peut avoir aussi bien une valeur positive qu'une valeur négative. Donc, les composés qui ont les valeurs de $\mathbf{P} > 1$ ou $\mathbf{log P} > 0$ sont lipophiles, et les composés qui ont les valeurs de $\mathbf{P} < 1$ ou $\mathbf{log P} < 0$ sont hydrophiles. La lipophilie reflète la balance entre deux classes d'interactions intermoléculaires: La première est proportionnelle à la taille du soluté, et la seconde est associée aux groupes fonctionnels (**Carrupt et al., (1997)**).

Résultat et discussion

1. Résultats

Dans ce travail, l'ensemble des résultats obtenus à l'issue des différents tests menés sont exposés. Les résultats basés sur l'utilisation de modèle **QSAR** comme méthode alternative à l'expérimentation animale afin de prédire l'effet toxique des parabènes, cas du butylparabène.

L'objectif fixé étant de présenter l'ensemble des résultats obtenus, il semble capital pour le lecteur de disposer l'ensemble des informations nécessaires à une compréhension rapide et claire. Pour cela, la présentation des résultats est réalisée à travers les différents documents.

Dans un premier temps, nous avons exposé comment la techniques de classification peut être appliquée pour classer des molécules toxiques suivant leur structure chimique. Nous avons par ailleurs montré que le test de classification des dangers toxiques par Cramer était capable de distinguer les molécules de haute toxicité (classe III), des molécules de faible toxicité (classe I).

The screenshot shows the Toxtree software interface. The main window displays the chemical structure of butylparabene (SMILES: CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1) and its classification as **Low (Class I)**. The interface includes a table of available structure attributes, a structure diagram, and a list of Cramer rules with their corresponding 'Yes/No' status and the resulting classification.

Available structure attributes	Value
Cramer rules	Low (Class I)
SMILES	CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
cdk:Comment	Created from SMILES
toxTree.tree.cramer.Cram...	[N, 2N, 3N, 5N, 6N, 7N, 15N, ...]

Structure diagram

Toxic Hazard by Cramer rules

Low (Class I)

Intermediate (Class II)

High (Class III)

Verbose explanation

Cramer rules

- Q1. Normal constituent of the body **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q2. Contains functional groups associated with enhanced toxicity **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q3. Contains elements other than C, H, O, N, divalent S **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q5. Simply branched aliphatic hydrocarbon or a common carbohydrate **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q6. Benzene derivative with certain substituents **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q7. Heterocyclic **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q16. Common terpene **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q17. Readily hydrolysed to a common terpene **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q19. Open chain **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q23. Aromatic **Yes** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q27. Rings with substituents **Yes** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q28. More than one aromatic ring **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q30. Aromatic Ring with complex substituents **No** CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1
- Q18. One of the list (see explanation) **No** Class **Low (Class I)**, CCCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1

Figure 13 : Classification de la toxicité du $C_{11}H_{14}O_3$ par la méthode de Cramer.

Selon la figure 13, le butylparabène ($C_{11}H_{14}O_3$) a un niveau faible de toxicité (**classe I**). Ce résultat met en évidence la capacité de ce test à classer la toxicité des molécules en trois classes, indiquant le degré de danger de chaque classe.

Nous verrons ensuite que les modèles **QSAR** sont un outil de prédiction de la reprotoxicité des substances chimiques, ils sont capables d'estimer les risques liés à certains composés (perturbateurs endocriniens).

Nous avons ensuite appliqué le test d'affinité de la liaison au récepteur d'œstrogène (**ERBA**) sur notre modèle chimique (**Figure 14**).

Les résultats de notre étude sont exprimés par :

- Le pourcentage d'affinité de la molécule cible avec les récepteurs des œstrogènes.

Selon le modèle **QSAR**, la liaison du butylparabène avec le récepteur d'œstrogène est **modérée** « **PM= 194** » (**Figure 15**).

L'affinité **ERB** du butylparabène avec le récepteur d'œstrogène chez l'homme égale à **0.018%**, et **0.0009%** chez les rats (**Akahori 2005, Fang 2001**).

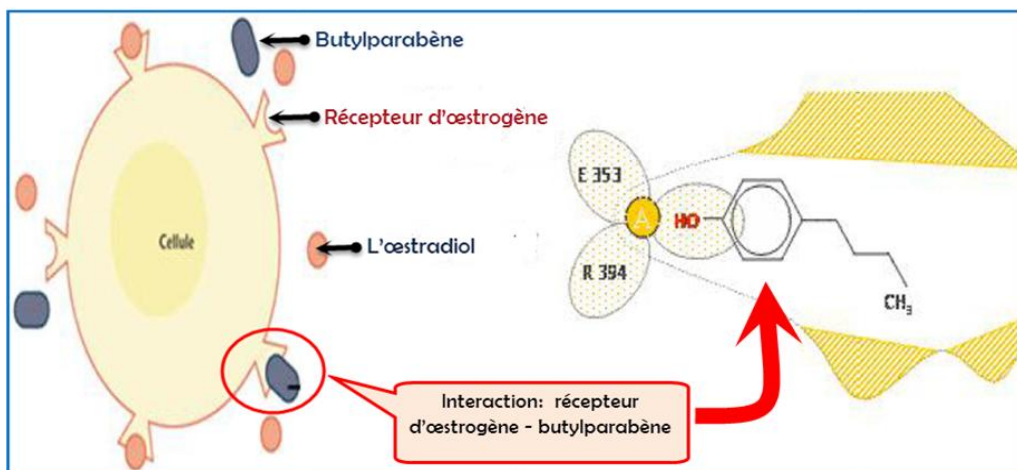


Figure 14 : L'interaction du butylparabène avec le récepteur d'œstrogène.

Descriptor	Units	Value
log Kow		3.47
Molecular weight	Da	194

Figure 15 : La valeur de logP, le poids moléculaire et l'affinité ERB de $C_{11}H_{14}O_3$ par la méthode QSAR.

- le coefficient de partage octanol/eau, noté **logP (log K_{ow})**, qui mesure la solubilité différentielle d'un soluté dans ces deux solvants non miscibles.

Le **log K_{ow}** est utilisé dans de nombreux modèles en tant que descripteur, pour la prédiction d'effet toxique ou biologique ou d'interaction ligand-récepteur.

Si le **Log K_{ow}** est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, qui entraîne le risque de bioaccumulation.

Dans notre cas, le coefficient de partage de **C₁₄H₁₁O₃** égale à 3.47 (**Figure 15**), donc la molécule cible est plus soluble dans l'octanol que dans l'eau ce qui exprime le caractère lipophile du butylparabène.

La figure 16 illustre la réponse positive concernant le test **ERBA**.

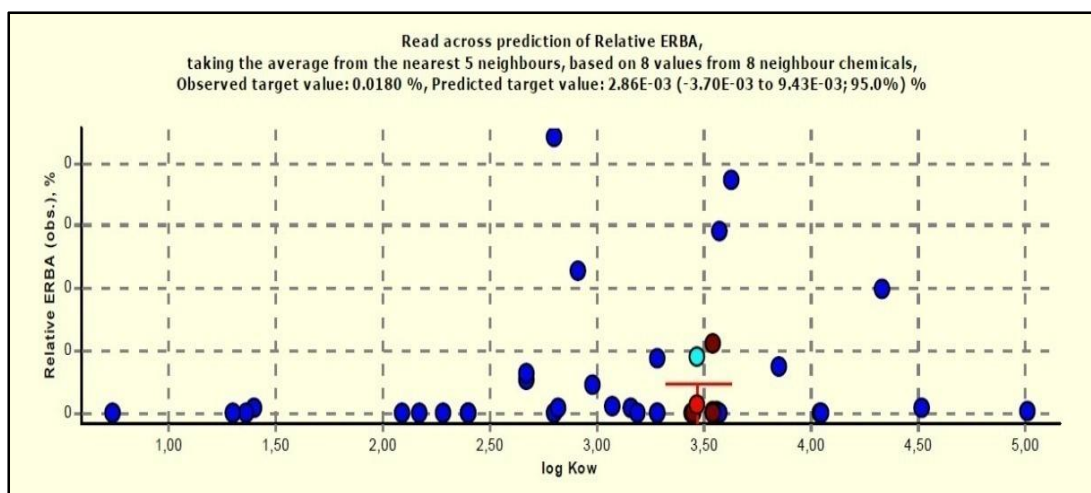


Figure 16 : Descripteur (logP) de prédiction sur la base de test ERBA.

- Le rouge représente la prédiction de produit chimique cible.
- Le marron représente le résultat expérimental pour l'analogue qu'est utilisé dans les références croisées.
- Le bleu représente le résultat expérimental pour l'analogue qui n'est pas utilisé dans les références croisées.

2. Discussion

Dans cette partie, nous discuterons les résultats obtenus lors de notre étude *in silico* avec d'autres travaux (*in vivo* et /ou *in vitro*).

Plusieurs études ont été menées pour étudier la toxicité après l'exposition au butylparabène *in vivo* et /ou *in vitro*.

Dès 1998, des études ont mis en évidence la capacité des parabènes à se lier au récepteur œstrogénique. Les parabènes ont cependant une capacité de liaison au récepteur des œstrogènes de 10 000, 30 000, 150 000 et 2 500 000 fois plus faible (respectivement pour le butyl, le propyl, l'éthyl et le méthyl parabène) que le ligand naturel, le 17β-œstradiol (**Routledge *et al.*, 1998**).

D'après Boberg *et al.*, 2011, Plusieurs tests *in vitro* ont par ailleurs mis en évidence une activité œstrogénique du butylparabène, de même que, plus récemment, une activité anti-androgénique. Bien que son affinité pour le récepteur aux œstrogènes soit relativement faible, environ 10 000 fois moins que celle du 17β-œstradiol, son ligand naturel. Le butylparabène est parmi les parabènes celui qui présente la plus forte affinité. L'activité perturbatrice endocrinienne des parabènes, dont le butylparabène, pourraient être, au moins partiellement indirecte, par l'inhibition des sulfotransférases, enzymes nécessaires à la régulation de l'action des œstrogènes *in vivo*. Dans cette étude, la plus forte activité inhibitrice a été obtenue avec le butylparabène (**Boberg *et al.*, 2011**).

In vitro, dans un test d'inhibition compétitive, Blair *et al* ont testé les parabènes pour leur capacité à déplacer l'œstradiol tritié du récepteur aux œstrogènes isolé de l'utérus de rate ovariectomisée : le butyl (RBA = 0,0009 %), propyl (0,0006 %), l'éthyl (0,0006 %), et le méthyl parabène (0,0004 %) (**Blair *et al.*, 2000**).

Selon kang *et al* 2002, l'étude réalisée *in vivo* montre que l'exposition d'un rat femelle en gestation, à 100 mg/kg de butylparabène (administration sous-cutanée) durant la gestation et la lactation (du 6^{ème} jour gestationnel au 20^{ème} jour postnatal) peut entraîner des effets secondaires sur le développement des rats mâles de la portée, notamment des organes reproducteurs. Au 49^{ème} jour postnatal, il est observé une diminution du poids des testicules, des vésicules séminales et de la prostate, et une réduction de la production et de la mobilité spermatozoaires. Au 90^{ème} jour postnatal, l'expression d'ARN_m des récepteurs alpha et bêta œstrogéniques est diminuée pour une dose administrée à la mère de 200 mg/kg de butylparabène (**Kang *et al.*, 2002**).

En comparant les résultats obtenus par la prédiction du potentiel œstrogénique des parabènes en utilisant le modèle **QSAR** avec d'autres travaux, on remarque que les méthodes *in silico* sont conformes avec les études réalisées *in vivo* et /ou *in vitro*, elles sont donc fidèles à l'évaluation de la toxicité des produits chimiques.

Ces résultats permettent donc uniquement de mettre en garde sur un effet reprotoxique plus ou moins néfaste des parabènes pour la santé humaine, qui doit être confirmé par des études *in vitro* et *in vivo*.

La méthodologie développée (modélisation par ordinateur) a permis de détecter des effets reprotoxiques *in silico* des parabènes, avec une variabilité importante des résultats (test **ERBA**, **logP**) pour notre cible ($C_{11}H_{14}O_3$).

A ce stade des connaissances actuelles, il n'est pas possible de conclure de manière générale sur le potentiel œstrogénique des parabènes utilisés dans les produits de consommation (médicaments, cosmétiques, etc....) et il convient de disposer des études appropriées au cas par cas en fonction des caractéristiques physico-chimiques spécifiques de chaque parabène.

Selon les conclusions des recommandations de l'**Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE)**, les méthodes existantes peuvent être utilisées mais doivent être adaptées pour tenir compte des spécificités liées aux parabènes. Il sera également nécessaire de disposer des données relatives à des expositions à long terme à des doses « réalistes », notamment *in vivo* mais également *in vitro*.

Conclusion

Dans ce PFE, nous avons présenté les opportunités offertes par l'intégration d'information obtenues *in vitro* dans un modèle **QSAR** afin de prédire la toxicité *in silico* des parabènes. L'espoir pour ces méthodes est d'obtenir des niveaux de prédiction des dangers identiques à ceux des tests *in vitro* sur des animaux, voire d'obtenir des niveaux de prédiction meilleurs en utilisant des tests ou modèles développés spécifiquement 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 des dangers ou des risques.

Cependant, il reste à appliquer la méthode sur un large panel de molécules, notamment pour les parabènes. L'approche intégrative « Le modèle structure de la molécule et activité biologique (**QSAR**) » est extrêmement prometteuse pour répondre aux exigences de la directive **RAECH**. Cette approche devrait aussi devenir un outil privilégié en évaluation du risque des parabènes, pour lesquels l'industrie ne peut désormais plus fonder ses évaluations sur des tests sur les animaux. Les modèles **QSAR** sont particulièrement adaptés à ces domaines, ou il s'agit d'extrapoler à long terme les effets de doses répétées à partir d'informations obtenues sur des temps courts.

Les parabènes restent un vaste sujet qui n'a pas encore révélé tous ses secrets. La considération des intérêts sanitaires et économiques des parabènes doivent alors favoriser une prise de décision mesurée et basée sur une compréhension du risque plutôt qu'une appréhension.

Référence bibliographique

Références bibliographique

- **Akahori Y., Nakai M., Yakabe Y., Takatsuki M., Mizutani M., Matsuo M., Shimohigashi Y., (2005).** « *Two-step models to predict binding affinity of chemicals to the human estrogen receptor alpha by three-dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSARs) using receptor-ligand docking simulation* ». SAR QSAR Environ Res. Aug;16(4):323-37.
- **Aurélié P., (2011).** « *Méthodes alternatives en expérimentation animale: Cas concrets d'outils d'évaluation in vitro / in vivo et de méthodes de prédiction in silico* ». 19P.
- **Blair RM., Fang H., Branham WS., Hass BS., Dial SL., Moland CL., Tong W., Shi L., Perkins R., Sheehan DM., (2000).** « *The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: structural diversity of ligands* ». Toxicol Sci , 54 :38-153.
- **Boberg J., Taxvig C., Christiansen S, Hass U., (2011).** « *Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites. Reprod Toxicol* ». 30 (2) : 301-12 /. Expertise collective. Paris : les Éditions INSERM .599-639, 736 p.).
- **Byford J.R., Shaw L.E., Drew M.G.B., Pope G.S., Sauer M.J., Darbre P.D., (2002).** « *Oestrogenic activity of parabens in MCF7 human breast cancer cells* ». J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 80: 49–60.
- **Carrupt F. A., Testa B., Gaillard P., (1997).** « *Computational Approaches to Lipophilicity: Methods and Applications* ». In Reviews in Computational Chemistry, Vol. 11 Wiley-VCH, New York (NY), 241-315P.
- **Cavaillès V., (2002).** « *Estrogens and Receptors: an Evolving Concept, Climacteric* ». 5 suppl. 2: 20-6P.
- **Chibani W., Bouabid A., Yahi A., (2014).** « *L'évaluation du potentiel génotoxique des nanoparticules (cas SiO₂) par une approche prédictive (Relation Quantitative*

Structure-Activité- QSAR) ». Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 Guelma, 35P.

- **Claude N., (2009).** « *Reducing the use of laboratory animals* ». Bull Acad Natl Med 193 : 1767-72 (discussion : p. 1772).
- **Corre C., Dalvai J., Dampfhofer M., Lamberlin M., et Terrasson R., (2009).** «*Les parabens : quelle problématique pour la Santé Publique ?* ». Ecole des hautes études en santé publique, 48.
- **Darbre P. D., Aljarrah A., Miller W. R., Coldham N. G., Sauer M. J., and Pope G. S., (2004).** «*Concentrations of parabens in human breast tumours. Journal of applied toxicology*». vol. 24, no 1, 5-13P.
- **Fang H., Tong W., Shi LM., Blair R., Perkins R., Branham W., Hass BS., Xie Q., Dial SL., Moland CL., Sheehan DM., (2001).** « *Structure-activity relationships for a large diverse set of natural, synthetic, and environmental estrogènes*». Chem Res Toxicol. Mar;14(3):280-94.
- **Frédéric Hasdenteufel., (2011).** « *Etude Des Relations Structure – Activité En Allergie Médicamenteuse* ».Thèse De Doctorat, Paris, Université Henri Poincaré, Nancy.
- **Gomez E., Pillon A., Fenet H., Rosain D., Duchesne M. J., Nicolas J. C., and Casellas C., (2005).** «*Estrogenic activity of cosmetic components in reporter cell lines: parabens., UV screens, and musks* ». Journal of Toxicology and Environmental Health, vol. 68, no 4 , 239-251P.
- **Goulon A., (2008).** «*Une nouvelle méthode d'apprentissage de données structurées : applications à l'aide à la découverte de médicaments*».Thèse de doctorat, Université PARIS 6 Pierre et Marie Curie, 135P.
- **Haman Camille., (2014).** « *les parabènes dans l'eau : Introduction dans l'environnement, occurrence et toxicité*». Thèse de doctorat, Nancy. Université de Lorraine, 84P.

- **Hansch C., Leo A., and Hoekmann D., (1995).** « *Exploring QSAR: hydrophobic, electronic and steric constants* ». Washington, DC : American Chemical Society.
- **Ishiwatari S., Suzuki T., Hitomi T., Yoshino T., Matsukuma S., and Tsuji, T., (2007).** « *Effects of methyl paraben on skin keratinocytes. Journal of Applied Toxicology* ». vol. 27, no 1, 1-9P.
- **Kang K.S., Che J.H., Ryu D.Y., Kim T.W., Li G.X., Lee Y.S., (2002).** « *Decreased sperm number and motile activity on the F1 offspring maternally exposed to butyl p-hydroxybenzoic acid (butylparaben)* ». J. Vet. Med. Sci., 64(3), 227-235.
- **Marque Alexandre., (2014).** « *Phtalates et parabènes dans les médicaments : impact pour l'industrie pharmaceutique d'une évolution de réglementation visant à les interdire* ». Thèse de doctorat, Université de Bordeaux U.F.R. des sciences pharmaceutiques, 172P.
- **Maurus Violette., (2015).** « *les parabenes, conservateurs controversés* ». Synthèse de master biologie gestion, Université de Rennes 1 UFR SVE, 26P.
- **Milen P. Todorov., (2015).** « *Identification of endocrine disrupting chemicals by in silico methods* ». University, Department of Inorganic Chemistry. Volume (9) , 1314-7234 .
- **Muller P., (2013).** « *Relations Structure-Activité pour le métabolisme et la toxicité* ». Thèse de doctorat, Université de Strasbourg, 143P
- **Mussard Justine., (2006).** « *les parabens, des conservateurs omniprésents : un risque pour la santé ?* ». Thèse de doctorat Université de Nante, 127P.
- **Nguyen T., Clare B., Guo W and Martinac B., (2005).** « *The effects of parabens on the mechano sensitive channels of E. coli* ». European Biophysics Journal Vol. 34, N°5. 389-395P.
- **Oishi S., (2002).** « *Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice* ». Arch.Toxicol 76: 423-429.

- **Oser B.L., Hall R.L., (1977).** « *Criteria employed by the expert panel of FEMA for the GRAS evaluation of flavouring substances*». Food and Cosmetic toxicology.15, 457.
- **Parson W.W et al., (1965).** «*An Intermediate in the Conversion of p-hydroxybenzoate-U-C14 to Ubiquinone in Rhodospirillum rubrum* ». Proc Natl Acad Sci USA, 53(3):599.
- **Peterson G., Rasmussen D, and Gustavson K., (2007).** « *Study on enhancing the endocrine disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals DHI Water and Environment* ». 252P.
- **Puzyn T., Rasulev B., Gajewicz A., Hu X., Dasari T. P., Michalkova A., Hwang H.M., Toropov A., Leszczynska D., (2011).** «*Using nano-QSAR to predict the cytotoxicity of metal oxide nanoparticles*».175-178.
- **Radovan C., et al., (2008).** «*Electrochemical Sensing and Assessment of Parabens in Hydro- Alcoholic Solutions and Water Using a Boron-Doped Diamond Electrode. Sensors* ». 8(7), 4330-4349P.
- **Routledge E.J et al., (1998).** « *Some Alkyl Hydroxy Benzoate Preservatives (Parabens) Are Estrogenic*». Toxicology and Applied Pharmacology, 153:12-19.
- **Soni M.G., Carabin I.G., Burdock G.A., (2005).** « *Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens), Food and Chemical Toxicology* ». 43 (7), 985-1015
- **Soni M.G., Taylor S.L., Greenberg N.A., Burdock G.A., (2002).** «*Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature*». Food and chemical Toxicology 40: 1335-1373.
- **Tavares R.S et al., (2009).** «*Parabens in male infertility - Is there a mitochondrial connection?* ». Reproductive Toxicology, 27:1-7.
- **Taylor P.J., (1990).** « *Hydrophobic Properties of Drugs. In Quantitative Drug Design* ». Vol. 4 (Ramsden, C.A., ed.), Pergamon Press, Oxford (UK), 241-294P.

- **Welboren W.J., et al. (2009).** « *Genomic Actions of Estrogen Receptor Alpha: what are the Targets and how are they Regulated?* ». 16(4) : 1073-89P.
- **Wermuth CG., Ganellin CR., Lindberg P., Mitscher LA., (1998).** « *Glossary of terms used in medicinal chemistry* ». Pure ApplChem; 70:1129-43.

Web graphie

- [1] : <<http://culturesciences.chimie.ens.fr/content/leparabenes-au-quotidien-862>>. Consulté le 14/02/2016.
- [2] : <<http://www.universalis.fr/encyclopedie/parabenes/3-que-disent-les-etudes-scientifiques-sur-les-parabenes/>>. Consulté le 16/02/2016.
- [3] : <<http://www.consoglobe.com/parabens-attention-aux-etiquettes-cg>>. Consulté le 16/02/2016.
- [4] : <http://fulltext.bdsp.ehesp.fr/Ehesp/memoires/ase_igs/2009/parabens.pdf>. Consulté le 15/03/2016.
- [5] : <<http://www.cancerenvironnement.fr/Default.aspx?TabId=420&genPdf=1>>. Consulté le 23/03/2016.
- [6] : <<http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/9833>>. Consulté le 14/03/2016.
- [7] : <<http://paraben-alternatives.fr/?s=paraben&paged=5>>. Consulté le 01/04/2016.
- [8] : <<http://www.assemblee-nationale.fr/13/pdf/rapports/r3306.pdf>>. Consulté le 15/03/2016.
- [9] : <http://www.dormer.com/Allergens/PDF/P_InfoFr/B-020.pdf>. Consulté le 05/04/2016.
- [10] : <http://www.orchestraqsar.eu/sites/default/files/Introductory_leaflet_on_in_silico_methods_fr.pdf>. Consulté le 26/03/2016.
- [11] : Des Politiques Meilleures Pour Une Vie Meilleure
<<http://www.oecd.org/fr/env/ess/risques/projetdelocdesurlesrelationsquantitativesdestructure-activiteqsars.htm>>. Consulté le 13/04/2016.
- [12] : <<https://www.echa.europa.eu/fr/web/guest/support/oecd-qsar-toolbox>>. Consulté le 03/02/2016.
- [13] : <http://www.qsartoolbox.org/doc/tutorials/tutorial_1.pdf>. Consulté le 04/02/2016.
- [14] : Laboratory of Mathematical Chemistry. 2004 - 2013. <<http://toolbox.oasis-lmc.org/?section=overview>>. Consulté le 20/04/2016.

- [15] : <https://translate.google.dz/translate?hl=fr&sl=en&u=https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/chem_background/exsumpdf/butylparaben_508.pdf&prev=search>. Consulté le 01/04/2016.
- [16] : <<http://www.inrs.fr/dms/inrs/PDF/bdd-demeter/DEM-128/DEM%20128.pdf>>. Consulté le 17/04/2016.
- [17] : <[http:// dir. indiamart.com/ impcat/ butylparaben. html](http://dir.indiamart.com/impcat/butylparaben.html)>. Consulté le 16/04/2016.
- [18] : <[https://translate.google.dz/translate?hl=fr&sl=en&u=http://www.wisegeek.com/ what-is-butylparaben.htm&prev=search](https://translate.google.dz/translate?hl=fr&sl=en&u=http://www.wisegeek.com/what-is-butylparaben.htm&prev=search)>. Consulté le 15/04/2016.
- [19] : <[https://books.google.dz/books?id=w6eCkXUdpMC&pg=PA84&lpg=PA84&dq=rter %20expert%20system%20ver%201%20usepa&source=bl&ots=DthFZ9U0Ud&sig=bsuLJLT eMgdwWZQ0UZLFFfhkjXI&hl=fr&sa=X&ved=0ahUKEwj7O3XTKAhVGuhQKHYdCoIQ6AEIzAB#v=onepage&q=rter%20expert%20system%20ver%201%20usepa&f=false](https://books.google.dz/books?id=w6eCkXUdpMC&pg=PA84&lpg=PA84&dq=rter%20expert%20system%20ver%201%20usepa&source=bl&ots=DthFZ9U0Ud&sig=bsuLJLT eMgdwWZQ0UZLFFfhkjXI&hl=fr&sa=X&ved=0ahUKEwj7O3XTKAhVGuhQKHYdCoIQ6AEIzAB#v=onepage&q=rter%20expert%20system%20ver%201%20usepa&f=false)>. Consulté le 15/02/2016.
- [20] : <<http://www.rts.ch/emissions/abe/1375033-cremes-anti-rides-coup-de-jeune-oucoupde-bluff.html>>. Consulté le 01/05/2016.
- [21] : <http://www.dictionnaireenvironnement.com/coefficient_de_partage_octanol /_eau_ko w_ID1814.html>. Consulté le 18/04/2016.
- [22] : <http://uved.univ-nantes.fr/sequence2/html/chap2_part45.html>. Consulté le 02/04/2016.

Résumé :

Il est prévu que les parabènes sont des conservateurs omniprésents dans les aliments, les cosmétiques et les médicaments que nous consommons, pourtant ils sont au centre de polémique portant notamment sur leur effet de perturbation endocrinienne. La sécurité de notre santé à un besoin pour des nouvelles méthodes pour tester rapidement la toxicité de ces substances. Les avancées actuelles de la recherche fondamentale conduisent à une approche systémique, intégrée et quantitative de la biologie. Elles devraient se traduire par une meilleure connaissance des mécanismes de toxicité mis en jeu qui devrait faciliter la compréhension des effets à faible dose, des effets des mélanges et des effets toxiques à long terme. Il est également important de développer de nouveaux tests fondés sur les méthodes alternatives (**QSAR: Quantitative Structure-Activity Relationship**). Ces modèles prédisent de façon fiable la toxicité de tous les composés considérés, et la méthode est censée fournir des orientations pour la conception future des substances chimiques en toute sécurité.

Mots clés : Butylparabène, étude *in silico*, **QSAR**, test **ERBA**, **logP**.

Abstract:

It is expected that parabens are ubiquitous preservatives in foods, cosmetics and drugs we consume, even though they are at the center of the controversy especially regarding their endocrine disrupting effect. The safety of our health is in need for new methods to rapidly test the toxicity of these substances. The Current advances of fundamental research lead to a systemic, integrated and quantitative biology. They should result in a better understanding of the toxicity mechanisms involved that should facilitate the understanding of low-dose effects, blending effects, and long-term toxic effects. It is also important to develop new tests based on alternative methods (**QSAR: Quantitative Structure Activity Relationship**). These models predict weakly how toxicity of all the compounds considered, and the method is intended to provide guidance for the future design of the chemical substances safely.

Key Words: Butylparaben, *in silico* study, **QSAR**, **ERBA** test, log **K_{ow}**.

Annexe

QSAR Toolbox prediction for single chemical

The template of the current report is based on "GUIDANCE DOCUMENT ON THE VALIDATION OF (QUANTITATIVE) STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS MODELS" published by OECD (September, 2007) and "GUIDANCE ON INFORMATION REQUIREMENTS AND CHEMICAL SAFETY ASSESSMENT / CHAPTER R.6: QSARS AND GROUPING OF CHEMICALS" published by ECHA (May, 2008).

The report provides information about the target substance, chemical characteristics used for the grouping, the resulting boundaries of the group of chemicals (applicability domain), the type of data gap filling approach that was applied (read-across, trend analysis or QSAR models), the predicted result(s) and in the Annex information about the category members or training set and test set chemicals.

The chemicals are ordered by the distance to the target substance within the descriptors space. Only chemicals with experimental data are listed as category members.

Depending on the settings selected by the user, detailed information (incl. 2D image and profiling results) is provided for some chemicals while more limited information (CAS, name, SMILES) is provided for others.

If not otherwise specified, the experimental values are reported in bold, recalculated experimental values are reported in bold & italic and calculated values are reported in regular font.

Table of content

Summary	3
1. Target substance	
1.1. CAS number	4
1.2. Other regulatory numbers	4
1.3. Chemical name(s)	4
1.4. Structural formula	4
1.5. Structure codes	4
1.6. Quality of structure identity (CAS/2D quality)	5
2. General information	
2.1. Date of report generation	5
2.2. Report author(s) and contact details	5
3. Category definition	
3.1. Category definition	5
3.2. Category justification	6
3.3. Data matrix	6
4. Prediction	
4.1. Defined endpoint (OECD Principle 1)	6
4.2. Unambiguous algorithm (OECD Principle 2)	7
4.3. Applicability domain (OECD Principle 3)	8
4.4. Uncertainty of the prediction (OECD Principle 4)	8
4.5. Chemical and biological mechanisms (OECD Principle 5)	8
5. Adequacy	
5.1. Regulatory purpose	9
5.2. Approach for regulatory interpretation of the model result	9
5.3. Outcome	9
5.4. Conclusion	9
Appendix 1 - Category members	10
Appendix 2 - Data matrix	26
Appendix 3 - QMRF	27
Appendix 4 - QMRF, training set	27
Appendix 5 - QMRF, test set	27
Appendix 6 - Additional information from QSAR	27
Appendix 7 - Chemical components	28

QSAR Toolbox prediction based on read-across

Prediction of Relative ERBA for butylparaben

Summary

Toxicity of the target chemical (2.86E-03 %) is predicted from category members using read-across based on 8 values within the range 0.00 - 0.0223 % from 8 nearest neighbours compared by prediction descriptors. Category members are single chemicals or mixtures and are selected based on the profile of the target chemical. Only chemicals having experimental data are listed in the category.

The target chemical FALLS within applicability domain of the prediction (see Section 4.3 for details).

The data used for calculating the current prediction is taken from 54 experimental values selected from the following database(s):

1. Estrogen Receptor Binding Affinity OASIS

Below is a summary table for endpoint & descriptor values for the target chemical and the first 10 category members.

Experimental values from data matrix are presented in bold font. Recalculated endpoint values (if required by selected data usage option in Gap Filling) are presented in italic font. Recalculated endpoint values based on experimental data only are presented in bold and italic font.

	Endpoint(s)	Descriptor(s)
	Human Health Hazards; Toxicity to Reproduction	log Kow
	%	-
Target chemical	9.45E-03	3.47
Cat. member No. 1	0.00	3.45
Cat. member No. 2	0.00	3.45
Cat. member No. 3	0.00	3.45
Cat. member No. 4	0.00	3.44
Cat. member No. 5	0.0223	3.54
Cat. member No. 6	6.10E-04	3.54
Cat. member No. 7	0.00	3.54
Cat. member No. 8	0.00	3.54
Cat. member No. 9	8.14E-04	3.56
Cat. member No. 10	0.0579	3.57

Section 1 - Target chemical

1.1. CAS number:

94-26-8

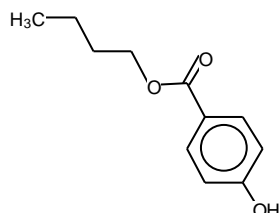
1.2. Other regulatory numbers:

Not reported

1.3. Chemical name(s):

butylparaben
butyl p-hydroxybenzoate
n-butyl 4-hydroxybenzoate
4-hydroxy-benzoic acid butyl ester
hydroxybenzoic acid butyl ester, p-
p-hydroxy butyl benzoate
butyl paraben
butyl-4-hydroxybenzoate
benzoic acid, 4-hydroxy-, butyl ester
butyl 4-hydroxybenzoate
n-butyl-p-hydroxybenzoate
4-hydroxybenzoic acid butyl ester

1.4. Structural formula:



1.5. Structure codes:

a. SMILES:

CCCCOC(=O)c1ccc(O)cc1

b. Input structure code (if different from SMILES):

Not available

c. Stereochemical features:

Not provided by the user

manually editable field

1.6. Quality of structure identity (CAS/2D quality):

High Quality

Databases to which the target chemical belongs are:

Aquatic OASIS
Carcinogenic Potency Database (CPDB)
Carcinogenicity&mutagenicity ISSCAN
Developmental toxicity ILSI
ECOTOX
Estrogen Receptor Binding Affinity OASIS
Experimental pKa
Genotoxicity OASIS
MUNRO non-cancer EFSA
Phys-chem EPISUITE
Skin Sensitization
Yeast estrogen assay database

Section 2 - General information

2.1. Date of report generation:

22.05.2016

2.2. Report author(s) and contact details:

manually editable field

Not provided by the user

Section 3 - Category definition and category members

3.1. Category definition:

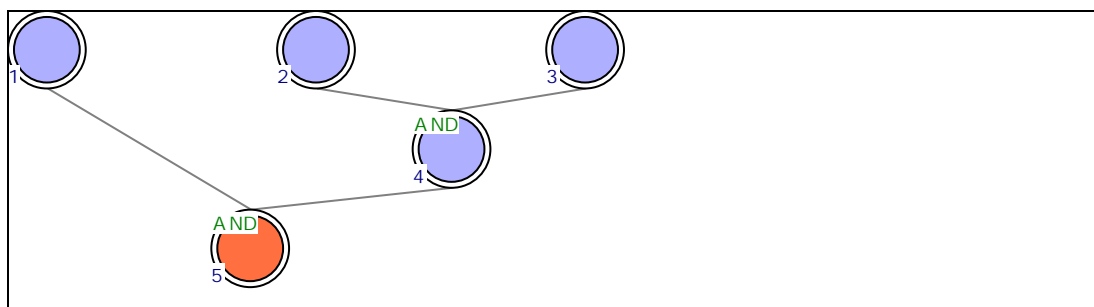
a. Category hypothesis:

manually editable field

Not provided by the user

b. Applicability domain of the category:

The applicability domain is defined by following scheme



1) Referential boundary:

The target chemical should be classified as Moderate binder , OH group by Estrogen Receptor Binding

2) Parametric boundary:

The target chemical should have a value of log Kow which is ≥ 3.44

3) Parametric boundary:

The target chemical should have a value of log Kow which is ≤ 3.54

c. Endpoints covered:

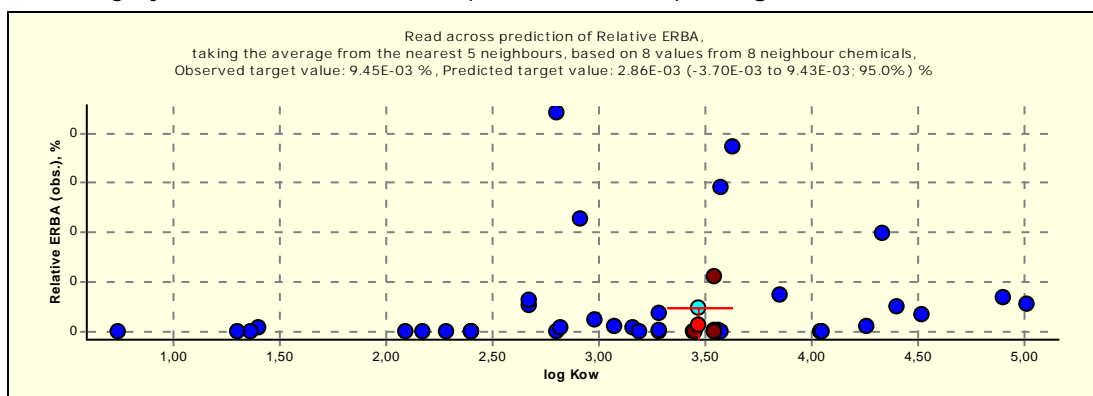
manually editable field

Not provided by the user

d. Category members:

The list of the category members is available in [Appendix 1](#)

The category members shown with respect to the descriptor log Kow



3.2. Category justification:

manually editable field

Not provided by the user

3.3. Data matrix:

The data matrix is available in [Appendix 2](#)

Section 4 - Prediction

4.1. Defined Endpoint (OECD Principle 1):

a. Endpoint (e.g. Acute toxicity to fish):

manually editable field

Relative ERBA

Materials & methods / type of method:

In Vitro

- b. Dependent variable (e.g. LC50):
(Relative ERBA) manually editable field
- c. Units:
% manually editable field
- d. Duration:
Not provided by the user manually editable field
- e. Species:
Human
Rat
Trout manually editable field

4.2. Unambiguous algorithm (OECD Principle 2):

- a. Prediction approach: manually editable field
Read-across from category members
Experimental values for the target chemical (if any) were not used in prediction calculations
- b. Calculation approach:
Takes average value from the 5 nearest neighbours
- c. Model name:
Not applicable
- d. Model version:
Not applicable
- e. Reference to QMRF:
Not applicable
- f. Input for prediction (target chemical):
SMILES
- g. Descriptor and endpoint values for target chemical (if applicable):

Descriptor(s)	
log Kow	3.47
Endpoint (dep. variable)	
Human Health Hazards; Toxicity to Reproduction	9.45E-03 %

- h. Additional chemicals eliminations (not determined by domain):
Not available
- i. Additional data eliminations (not determined by domain):
Not available
- j. Predicted value (model result):
2.86E-03 %

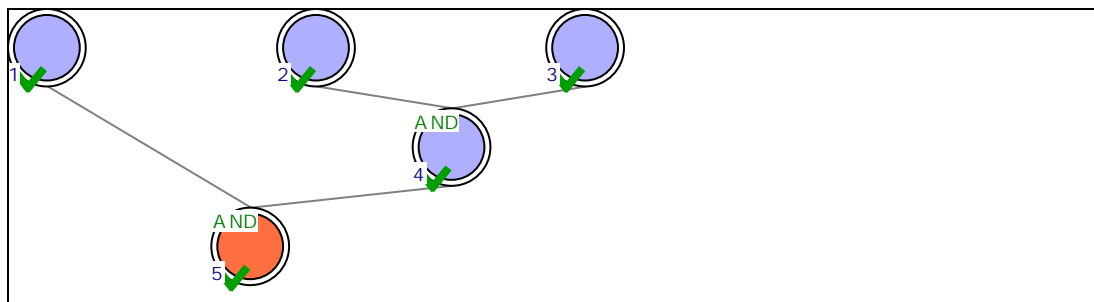
k. Predicted value (comments):

manually editable field

Not provided by the user

4.3. Applicability domain (OECD Principle 3):

The target chemical FALLS within applicability domain
(see Section 3.1.b for detailed description of the domain)



4.4. Uncertainty of the prediction (OECD Principle 4):

manually editable field

The prediction is based on 8 values within the range 0.00 - 0.0223, %
Prediction confidence = $\pm 6.57E-03$, % (95.0%)

4.5. Chemical and biological mechanisms (OECD Principle 5):

Profiling results for the target substance:

DNA binding by OECD

No alert found

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

No alert found

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

Low (Class I)

US-EPA New Chemical Categories

Esters (Acute toxicity)

Phenols (Acute toxicity)

Comments:

Not provided by the user

manually editable field

Section 5 - Adequacy

5.1. Regulatory purpose:

Not provided by the user

manually editable field

5.2. Approach for regulatory interpretation of the model result:

Not provided by the user

manually editable field

5.3. Outcome:

Not provided by the user

manually editable field

5.4. Conclusion:

Not provided by the user

manually editable field

QSAR Toolbox prediction based on read-across

Prediction of Relative ERBA for butylparaben

APPENDIX 1 - Category members

From 45 category members, 10 chemicals are reported in more detail,
the remaining category members are listed in a table with basic information

1. Cat. member No.1:

used for read-across

1.1. CAS number:

95-95-4

1.2. Other regulatory numbers:

Not reported

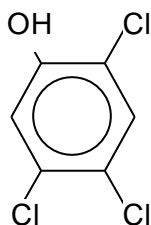
1.3. Chemical name(s):

2,4,5-trichlorophenol
trichlorophenol, 2,4,5-
phenol, 2,4,5-trichloro-
2,4,5-trichloro-phenol

1.4. Structural formula:

SMILES

Oc1cc(Cl)c(Cl)cc1Cl



1.5. Profiling results:

DNA binding by OECD

No alert found

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

SNAr

SNAr >> Nucleophilic aromatic substitution

SNAr >> Nucleophilic aromatic substitution >> Activated halo-benzenes

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

High (Class III)

US-EPA New Chemical Categories

Phenols (Acute toxicity)

2. Cat. member No.2:

used for read-across

2.1. CAS number:

933-78-8

2.2. Other regulatory numbers:

Not reported

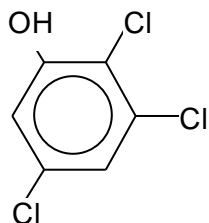
2.3. Chemical name(s):

2,3,5-trichlorophenol
trichlorophenol, 2,3,5-
2,3,5-trichloro-phenol

2.4. Structural formula:

SMILES

Oc1cc(Cl)cc(Cl)c1Cl



2.5. Profiling results:

DNA binding by OECD

No alert found

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

SNAr

SNAr >> Nucleophilic aromatic substitution

SNAr >> Nucleophilic aromatic substitution >> Activated halo-benzenes

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

High (Class III)

US-EPA New Chemical Categories

Phenols (Acute toxicity)

3. Cat. member No.3:

used for read-across

3.1. CAS number:

15950-66-0

3.2. Other regulatory numbers:

Not reported

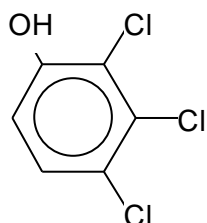
3.3. Chemical name(s):

2,3,4-trichlorophenol
chlorophenol, 2,3,4-
trichlorophenol, 2,3,4-
2,3,4-trichloro-phenol

3.4. Structural formula:

SMILES

Oc1ccc(Cl)c(Cl)c1Cl



3.5. Profiling results:

DNA binding by OECD

No alert found

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

No alert found

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

High (Class III)

US-EPA New Chemical Categories

Phenols (Acute toxicity)

4. Cat. member No.4:

used for read-across

4.1. CAS number:

117-99-7

4.2. Other regulatory numbers:

Not reported

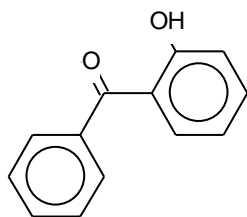
4.3. Chemical name(s):

methanone, (2-hydroxyphenyl)phenyl-
2-hydroxybenzophenone
o-hydroxybenzophenone
(2-hydroxyphenyl)(phenyl)methanone

4.4. Structural formula:

SMILES

Oc1ccccc1C(=O)c1ccccc1



4.5. Profiling results:

DNA binding by OECD

No alert found

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

No alert found

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

High (Class III)

US-EPA New Chemical Categories

Phenols (Acute toxicity)

5. Cat. member No.5:

used for read-across

5.1. CAS number:

101-53-1

5.2. Other regulatory numbers:

Not reported

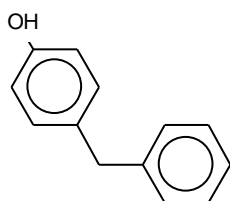
5.3. Chemical name(s):

4-hydroxydiphenylmethane (4-benzylphenol)
4-hydroxydiphenylmethane
phenol, 4-(phenylmethyl)-
4-(phenylmethyl)-phenol
4-benzylphenol
4-hydroxy diphenylmetane
p-benzylphenol
p-cresol, .alpha.-phenyl-
4-(phenylmethyl)phenol

5.4. Structural formula:

SMILES

Oc1ccc(Cc2ccccc2)cc1



5.5. Profiling results:

DNA binding by OECD

Michael addition

Michael addition >> P450 Mediated Activation to Quinones and Quinone-type Chemicals

Michael addition >> P450 Mediated Activation to Quinones and Quinone-type Chemicals >> Arenes

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

No alert found

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

High (Class III)

US-EPA New Chemical Categories

Phenols (Acute toxicity)

6. Cat. member No.6:

used for read-across

6.1. CAS number:

2443-58-5

6.2. Other regulatory numbers:

Not reported

6.3. Chemical name(s):

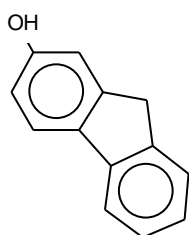
2-hydroxyfluorene

9h-fluoren-2-ol

6.4. Structural formula:

SMILES

Oc1ccc2c(Cc3ccccc-23)c1



6.5. Profiling results:

DNA binding by OECD

No alert found

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

No alert found

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

High (Class III)

US-EPA New Chemical Categories

Not categorized

7. Cat. member No.7:

used for read-across

7.1. CAS number:

500-66-3

7.2. Other regulatory numbers:

Not reported

7.3. Chemical name(s):

olivetol (5-pentylresorcinol)

olivetol

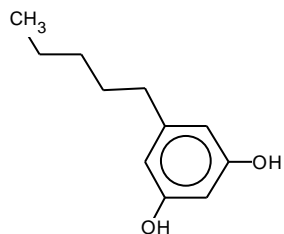
5-pentylresorcinol

5-pentylbenzene-1,3-diol

7.4. Structural formula:

SMILES

CCCCc1cc(O)cc(O)c1



7.5. Profiling results:

DNA binding by OECD

No alert found

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

No alert found

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

Low (Class I)

US-EPA New Chemical Categories

Phenols (Acute toxicity)

8. Cat. member No.8:

used for read-across

8.1. CAS number:

28994-41-4

8.2. Other regulatory numbers:

Not reported

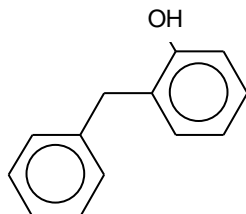
8.3. Chemical name(s):

2-benzylphenol
phenol, 2-(phenylmethyl)-
2-hydroxydiphenylmethane
o-cresol, .alpha.-phenyl-
2-(phenylmethyl)phenol

8.4. Structural formula:

SMILES

Oc1ccccc1Cc1ccccc1



8.5. Profiling results:

DNA binding by OECD

Michael addition

Michael addition >> P450 Mediated Activation to Quinones and Quinone-type Chemicals

Michael addition >> P450 Mediated Activation to Quinones and Quinone-type Chemicals >> Arenes

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

No alert found

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

High (Class III)

US-EPA New Chemical Categories

Phenols (Acute toxicity)

9. Cat. member No.9:

9.1. CAS number:

18979-53-8

9.2. Other regulatory numbers:

Not reported

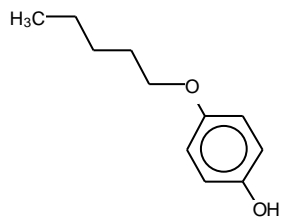
9.3. Chemical name(s):

phenol, 4-(pentyloxy)-
p-(pentyloxy)phenol
4-pentyloxyphenol
4-(pentyloxy)phenol

9.4. Structural formula:

SMILES

CCCCCOC1ccc(O)cc1



9.5. Profiling results:

DNA binding by OECD

No alert found

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

No alert found

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

Intermediate (Class II)

US-EPA New Chemical Categories

Phenols (Acute toxicity)

10. Cat. member No.10:

10.1. CAS number:

831-82-3

10.2. Other regulatory numbers:

Not reported

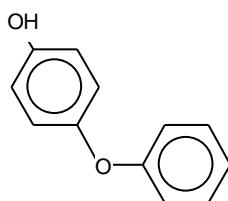
10.3. Chemical name(s):

4-phenoxyphenol
phenol, 4-phenoxy-
p-phenoxyphenol

10.4. Structural formula:

SMILES

Oc1ccc(Oc2ccccc2)cc1



10.5. Profiling results:

DNA binding by OECD

No alert found

Estrogen Receptor Binding

Moderate binder, OH group

OECD HPV Chemical Categories

Not categorized

Protein binding by OECD

No alert found

Protein binding potency

Not possible to classify according to these rules (GSH)

Superfragments

No superfragment

Toxic hazard classification by Cramer (original)

High (Class III)

US-EPA New Chemical Categories

Phenols (Acute toxicity)

Chemical(s) No. 11 - 45 are reported below:

No.	CAS	Chem. name	SMILES	RA
11	86-77-1	dibenzofuran-2-ol	<chem>Oc1ccc2c(c1)-c1ccccc1O2</chem>	
12	1689-82-3	4-phenylazophenol	<chem>Oc1ccc(N=Nc2ccccc2)cc1</chem>	
13	90-43-7	2-phenylphenol	<chem>Oc1ccccc1-c1ccccc1</chem>	
14	92-69-3	4-phenylphenol	<chem>Oc1ccc(-c2ccccc2)cc1</chem>	
15	580-51-8	3-phenylphenol (3-hydroxybiphenyl)	<chem>Oc1ccc(-c2ccccc2)c1</chem>	
16	41175-50-2	8-hydroxyjulolidine	<chem>Oc1ccc2CCCN3CCCc1c23</chem>	
17	2524-37-0	ethyl-2,4-dihydroxy-6-methylbenzoate	<chem>CCOC(=O)c1c(C)cc(O)cc1O</chem>	
18	2138-20-7	4-cyclohexylresorcinol	<chem>Oc1ccc(C2CCCCC2)c(O)c1</chem>	
19	6949-73-1	2-hydroxy-9-fluorenone	<chem>Oc1ccc2c(c1)C(=O)c1ccccc-21</chem>	
20	94-13-3	n-propyl 4-hydroxybenzoate	<chem>CCCOC(=O)c1ccc(O)cc1</chem>	
21	4191-73-5	isopropyl-4-hydroxybenzoate	<chem>CC(C)OC(=O)c1ccc(O)cc1</chem>	
22	136-77-6	4-hexylresorcinol	<chem>CCCCCCc1ccc(O)cc1O</chem>	
23	6554-98-9	4-stilbenol	<chem>Oc1ccc(C=Cc2ccccc2)cc1</chem>	
24	18979-55-0	4-hexyloxyphenol	<chem>CCCCCCOc1ccc(O)cc1</chem>	
25	19812-93-2	4'-hydroxy-4-biphenylcarbonitrile	<chem>N#Cc1ccc(-c2ccc(O)cc2)cc1</chem>	
26	92-88-6	[1,1'-biphenyl]-4,4'-diol	<chem>Oc1ccc(-c2ccc(O)cc2)cc1</chem>	
27	1806-29-7	2,2'-biphenol	<chem>Oc1ccccc1-c1ccccc1O</chem>	
28	6335-83-7	4-phenethylphenol	<chem>Oc1ccc(CCc2ccccc2)cc1</chem>	
29	1137-42-4	4-benzoylphenol	<chem>Oc1ccc(C(=O)c2ccccc2)cc1</chem>	
30	13020-57-0	3-hydroxybenzophenone	<chem>Oc1ccc(C(=O)c2ccccc2)c1</chem>	
31	1131-60-8	phenol, 4-cyclohexyl-	<chem>Oc1ccc(C2CCCCC2)cc1</chem>	
32	32390-46-8	p-tert-hexylphenol	<chem>CCCC(C)(C)c1ccc(O)cc1</chem>	
33	2446-69-7	p-n-hexylphenol	<chem>CCCCCCc1ccc(O)cc1</chem>	
34	95-56-7	2-bromophenol	<chem>Oc1ccccc1Br</chem>	
35	106-41-2	4-bromophenol	<chem>Oc1ccc(Br)cc1</chem>	
36	591-20-8	3-bromophenol	<chem>Oc1ccc(Br)c1</chem>	
37	105640-07-1	4-(4-hydroxyphenyl)cyclohexanone	<chem>Oc1ccc(C2CCC(=O)CC2)cc1</chem>	
38	5553-97-9	tyrphostin 63	<chem>N#CC(Cc1ccc(O)cc1)C#N</chem>	
39	5597-50-2	methyl 3-(4-hydroxyphenyl)propionate	<chem>COC(=O)CCc1ccc(O)cc1</chem>	
40	72624-02-3	p-tert-heptylphenol	<chem>CCCC(C)(C)c1ccc(O)cc1</chem>	

Appendix 1 - Category members

41	1987-50-4	p-n-heptylphenol	<chem>CCCCCCCc1ccc(O)cc1</chem>
42	63177-57-1	dihydroxycinnamic acid methyl ester	<chem>COC(=O)C=Cc1ccc(O)c(O)c1</chem>
43	3943-89-3	ethyl-3,4-dihydroxybenzoate	<chem>CCOC(=O)c1ccc(O)c(O)c1</chem>
44	831-61-8	ethyl gallate	<chem>CCOC(=O)c1cc(O)c(O)c(O)c1</chem>
45	142172-97-2	2-(4-hydroxyphenyl)-5-pyrimidinol	<chem>Oc1ccc(-c2ncc(O)cn2)cc1</chem>

QSAR Toolbox prediction based on read-across

Prediction of Relative ERBA for butylparaben

APPENDIX 2 - Data matrix

Tables containing data from different sections of the data matrix for the first 10 category members are available on next pages

NOTES:

Experimental values were collected from the following databases:

1. Estrogen Receptor Binding Affinity OASIS

Experimental values are reported in bold font,
calculated/recalculated values are reported in regular font

QSAR Toolbox prediction based on read-across

Prediction of Relative ERBA for butylparaben

APPENDIX 3 - QMRF

APPENDIX 4 - QMRF, training set chemicals

APPENDIX 5 - QMRF, test set chemicals

APPENDIX 6 - Additional information from (Q)SAR

NOT APPLICABLE

QSAR Toolbox prediction based on read-across

Prediction of Relative ERBA for butylparaben

APPENDIX 7 - Chemical components

NOT APPLICABLE