

Méthodes alternatives à l'expérimentation animale pour l'évaluation des risques sanitaires (expérimentation *in vitro*, QSAR...)

De l'inventaire exhaustif des composés chimiques industriels à la prédiction *in silico* d'un risque ponctuel : deux approches opposées mais convergentes

Période : mars 2008 à mars 2009

Jacques CHRETIEN

BioChemics Consulting SAS - Olivet

Mots clés : Composés chimiques, Evaluation du risque, QSAR, Méthodes alternatives

Dans le cadre des méthodes alternatives à l'expérimentation animale pour l'évaluation des risques sanitaires, deux publications ont été retenues dans la fenêtre de temps correspondant au présent Bulletin de Veille Scientifique. Elles ont comme dénominateur commun la mise en œuvre de méthodes d'informatique chimique, ou méthodes *in silico*, par opposition aux méthodes expérimentales *in vitro* ou *in vivo*. L'article de Zvinvashe *et al.* (2009) aborde le management de l'information structurale dans de grandes bases de données chimiques, dans un but de classification, en vue d'élaborer, ultérieurement, des modèles prédictifs. Le second article de Jackson *et al.* (2009) aborde l'élaboration d'un modèle ponctuel, de type Relation Quantitative Structure-Activité (QSAR)¹ pour une série réduite de composés chimiques utilisés en tant que pesticides. Le traitement de l'information, à l'interface chimie/biologie, est le point de convergence de ces deux publications, même si présentement elles sont encore fondamentalement différentes sur le plan de l'objectif scientifique et de l'approche méthodologique.

Le rapprochement entre ces deux articles permet de baliser l'étendue du domaine scientifique dans lequel les méthodes alternatives à l'expérimentation animale peuvent et doivent s'insérer pour contribuer à la maîtrise du risque sanitaire potentiel des produits chimiques, objectif majeur de la réglementation européenne REACH².

Approche « industrielle » des méthodes alternatives à l'expérimentation animale

L'article de Zvinvashe *et al.* (2009) correspond à « une approche de type industriel ». Son objectif est de fournir une approche générale simple et efficace pour prendre en compte, de façon réaliste, les 30 000 molécules de composés chimiques identifiés ou de mélanges, faisant l'objet d'une production annuelle supérieure à une tonne, en vue de faire assumer par les fabricants la gestion du risque imposée par REACH. Les auteurs considèrent dans ce but le fond européen EINECS³ qui comporte à ce jour plus de 100 000 substances chimiques produites industriellement. Un travail de classification automatique, assez laborieux par son ampleur mais relativement simple conceptuellement, regroupe les

composés par familles chimiques. Parmi ce fond, plus de 54 000 de ces substances sont réparties en 49 classes chimiques principales. Le but est de sélectionner les séries de composés qui pourraient permettre, ultérieurement, d'établir des modèles QSAR pour estimer l'activité biologique de molécules non encore testées expérimentalement. Cette possibilité d'élaboration de modèles prédictifs reste conditionnée par la récupération préalable d'un minimum de données biologiques existantes adaptées.

Commentaire

Cette publication permet de renforcer l'intérêt du fond EINECS en tant qu'inventaire exhaustif des molécules chimiques d'intérêt industriel. Elle donne une mesure des objectifs initiaux particulièrement ambitieux du programme REACH. Pour bien appréhender les enjeux réglementaires, économiques et scientifiques de REACH il est utile, dans un premier temps, de maîtriser le contenu informationnel du fond EINECS sur le plan chimique. Les 49 classes chimiques citées plus haut font appel à des connaissances de base de chimie organique descriptive, accessibles à tout chimiste. Par la suite, en vue d'évaluer l'innocuité ou un risque sanitaire potentiel, il serait nécessaire de recouper cette base avec les données biologiques d'activité ou de toxicité, lorsqu'elles existent, sachant quelles ne sont pas mentionnées dans le fond EINECS. C'est alors que les méthodes de simulation *in silico*, lorsqu'elles sont applicables, pourront contribuer à combler l'absence de données expérimentales. A partir de raisonnements analogiques fondés sur la diversité moléculaire il sera possible d'élargir le concept de classes à celui de séries de composés similaires pouvant résulter d'un mécanisme d'action comparable.

Elaboration de modèle ponctuel de type QSAR

L'article de Jackson *et al.* (2009) porte sur la faisabilité de l'établissement de modèles QSAR de prédiction de la bioconcentration (BCF)⁴ de pesticides chez le poisson « crapet arlequin » (*Lepomis macrochirus*), plus connu sous son nom anglo-saxon de « bluegill ». Les auteurs se réfèrent à un travail antérieur où la BCF était estimée par la détermination

du coefficient de partage octanol/eau (log Kow). Certes, ce seul paramètre fournissait une variable explicative importante, une analyse de tendance, mais sans pour autant arriver au concept actuel de modèle prédictif. Le présent article est limité à un champ structural correspondant à une série d'une centaine de pesticides. L'attention est focalisée sur l'élaboration d'un modèle prédictif QSAR de la BCF où l'activité est exprimée en fonction du coefficient de partage octanol/eau (log Kow) et de descripteurs moléculaires traduisant des propriétés structurales ou physico-chimiques. Le modèle est établi à partir d'un jeu d'entraînement portant sur 93 molécules. Sa capacité prédictive est testée sur un jeu d'essai de 16 molécules, un coefficient de corrélation satisfaisant est obtenu ($R^2=0.88$).

Commentaire

Cette publication récente correspond à un travail dont la motivation est à visée très spécifique, à l'opposé du précédent article à visée généraliste. Mais les deux approches sont complémentaires en termes stratégiques, notamment dans le cadre du programme REACH. Notons que le concept de diversité moléculaire, désormais implicite dans les modèles QSAR, permet de dépasser une description élémentaire des molécules, même s'il n'est pas abordé spécifiquement ici. Il permet de comparer les molécules les unes aux autres non seulement sur une base classique de chimie organique, c'est à dire sur une base atomique, de fragments structuraux ou de sous-structures, mais aussi en termes de profil moléculaire fondés sur les similarités physicochimiques qui joueront un rôle essentiel dans l'activité biologique de ces molécules. Ce qui apporte une plus grande capacité de généralisation et de simulation moléculaire.

Conclusion générale

Cette juxtaposition d'articles est plus spécialement instructive sur deux plans: (i) le plan stratégique et (ii) le plan méthodologie et dissémination.

(i) Sur le plan stratégie, le jeu de rôle usuel entre recherche académique ou industrielle est inversé. La première équipe d'origine universitaire (**Zvinvashe et al., 2009**) attaque une réalité industrielle dans sa globalité et aborde de façon progressive et pragmatique les molécules chimiques qui sont ou seront soumises à REACH. Ce travail correspond à une ouverture sur des travaux ultérieurs. Par contre, la deuxième équipe (**Jackson et al., 2009**) est d'origine industrielle. Deux grands groupes chimiques internationaux, implantés aux Etats-Unis et qui se sont déjà investis fortement dans l'environnement, y sont impliqués. Mais paradoxalement, le travail présenté est de style « académique ». Il correspond à un travail très ciblé, plus facilement maîtrisable

dans son exécution et plus facilement publiable, par voie de conséquence. Il s'avère fondamental d'encourager la synergie entre ces deux types d'approches, quelles que soient les origines institutionnelles des acteurs impliqués, en vue de répondre au mieux aux exigences réglementaires telles qu'elles s'imposent désormais. Cette inversion de « jeux de rôles » est même très saine en terme de pilotage de la recherche. Elle est en accord avec les programmes de recherche européens des plans PF6 et PF7 qui encouragent un maillage entre partenaires académiques et industriels. L'ouvrage Benfenati (2007) en fournit une bonne illustration.

(ii) Sur les plans méthodologie et dissémination, ces travaux *in silico* impliquent un domaine d'étude assez récent qui nécessite des compétences pluridisciplinaires à l'interface de la chimie, la biologie, l'informatique chimique, les mathématiques et les statistiques. Il paraît important de souligner que les méthodes *in silico* ont été particulièrement formalisées sous l'impulsion des besoins de la chimie pharmaceutique. Les diverses étapes de la mise en œuvre de l'élaboration d'un modèle *in silico* et, toute la méthodologie associée, ont clairement été formalisées ou rappelées dans les quatre « publications de référence » accompagnant cette note, au cours de la présente décennie. Ces travaux *in silico* sont publiés le plus souvent dans des revues internationales spécialisées dans le domaine de la chimie informatique, mieux connue sous le vocable de « computational chemistry ».

En raison de l'accroissement actuel important des besoins en chimie environnementale, notamment sous l'impulsion du programme REACH, il est bon que les travaux de QSAR gagnent également les revues impliquées dans la recherche environnementale ou sanitaire, pour la meilleure dissémination possible des outils et des connaissances. Les outils sont un moyen et non un but. Certes le prix à payer risque d'être un filtrage momentanément moins strict de la qualité de certains articles sur le plan de la méthodologie et de l'analyse critique des résultats. La revue J. Agric. Food Chem. de l'American Chemical Society à propos de l'article cité dans cette note, pourrait illustrer incidemment ce propos. D'une façon plus générale ces travaux pluridisciplinaires sont multi-facettes. Ils peuvent être examinés sous différents angles et avec différents points de vue, mais pour chacun d'eux la robustesse de la méthode et la validation des prédictions se doivent d'être documentées et établies avec l'état de l'art sans cesse perfectible.

De l'inventaire exhaustif des composés chimiques industriels à la prédiction *in silico* d'un risque ponctuel : deux approches opposées mais convergentes – Jacques CHRETIEN

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Alternative procedure, Environment, *In vitro*, QSAR, Risk management.

Publications sélectionnées

Zvinvashe E, Murk AJ, Rietjens IM. On the number of EINECS compounds that can be covered by (Q)SAR models for acute toxicity. *Toxicol. Let.* 2009; 184:67-72.

Jackson SH, Cowan-Ellsberry CE, Thomas G. Use of quantitative structural analysis to predict fish bioconcentration factors for pesticides. *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57(3):958-67.

Publications de référence

Goldbraikh A, Tropsha A. Predictive QSAR modeling based on diversity sampling of experimental datasets for the training and test set selection. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 2002; 16(5-6):357-69.

Grammatica P. Principles of QSAR models validation : internal and external. *QSAR Comb. Sci.* 2007; 26(5):694-701.

OECD. Guidance document on the validation of (Quantitative) Structure-Activity Relationships [(Q)SAR] Models. *Environ. Health Safety Publi.* 2007; 42-65.

Benfenati E. Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) for pesticide regulatory purposes. Elsevier Editor. 2007; 532 p.

Lexique

¹ QSAR: Quantitative Structure Activity Relationships. Dans un modèle QSAR, l'activité biologique est exprimée en fonction de descripteurs moléculaires sous forme d'une équation du premier degré.

² REACH: Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals.

³ EINECS: European Inventory of Existing Chemical Substances.

⁴ BCF: Bioconcentration Factor.