

$$\begin{aligned} a_{11}x_1 + a_{12}x_2 + \cdots + a_{1n}x_n &= b_1 \\ a_{21}x_1 + a_{22}x_2 + \cdots + a_{2n}x_n &= b_2 \\ &\vdots \\ a_{n1}x_1 + a_{n2}x_2 + \cdots + a_{nn}x_n &= b_n \end{aligned} \Rightarrow \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{n1} & a_{n2} & \cdots & a_{nn} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \\ x_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} b_1 \\ b_2 \\ \vdots \\ b_n \end{bmatrix}$$

HODNOCENÍ TOXICITY IN SILICO

REACH

- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006
- Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
- prohloubit znalosti o nebezpečných vlastnostech jednotlivých chemických látek používaných v rámci Evropské unie
- v konečném důsledku by se na evropském trhu **neměly vyskytovat látky**, jejichž nebezpečné vlastnosti (toxikologické, ekotoxikologické a fyzikálně-chemické) **nebyly dostatečně prostudovány, popsány, zhodnoceny a experimentálně prokázány**

REACH

- **jenže:**
- nové i **existující** chemické látky
- experimentální testování toxikologických a ekotox. vlastností vyžaduje značné množství laboratorních zvířat
- potřebné množství testovacích organismů bylo minimální (**3R**)
- provádění nových studií na obratlovcích pouze jako poslední možnost, nejsou-li dostatečně průkazné výsledky jiných alternativních metod

PREDIKČNÍ TOXIKOLOGIE

- zabývá se metodami stanovení toxicity a toxických indexů chemických látek, které dosud **nebyly testovány experimentálně**
- **alternativní metody** testování
- *in silico* (stanovení/odhad výpočtem)
- *in vitro* (buňky, tkáně, nízké organismy)
- cíle: získat informaci o nebezpečnosti chemických látek pro zdraví rychle, levně a s co nejmenším utrpením pokusných zvířat

IN SILICO METODY

- neocenitelné
- využívají výpočetních metod k rozšíření stávajících experimentálních dat
- mohou být použity pro rychlejší posouzení tisíců chemikálií
- *in silico* = s využitím počítače



IN SILICO METODY

- SAR a QSAR
- Read-across
- sdružování látek
- analýza trendu

1. (Q)SAR

- SAR (Structure-Activity Relationship)
- je obecným označením metod a modelů pro rozbor a popis **kvalitativních** vztahů strukturálních vlastností látek a jejich vlivu na fyzikální, chemické či biologické vlastnosti
- ke **kvantifikaci** těchto vztahů pak slouží metody a modely **QSAR** (Quantitative Structure-Activity Relationship)

1. (Q)SAR

- statistické modely popisující vztah typicky mezi strukturálními či fyzikálně-chemickými vlastnostmi látky a jejich chemickými vlastnostmi či biologicky účinky
- k vytvoření modelů (Q)SAR je využíváno standardních postupů a metod statistiky, vytěžování dat (data mining) a strojového učení
- vytvoření modelu obvykle vyžaduje použití rozsáhlého množství dat a informací o značném počtu chemických látek chemických struktur
- tyto informace pak tvoří trénovací, testovací a validační množinu pro sestavení modelu
- po důkladné validaci a ověření spolehlivosti modelu jsou následně vytvořená pravidla uplatňována na chemickou strukturu, jejíž vlastnosti chceme odhadnout

1. QSAR

- vlastnosti fyzikálně chemické jsou společně dány uspořádáním elektronů v molekule, molekulovými orbitaly té které sloučeniny
- biologická účinnost, velikost biologického účinku, je určena kritickým procesem, který je **nejpomalejší** a který určuje velikost účinku – **koncentraci účinné látky** v místě účinku
- může být řízen vlastnostmi molekul:
 - **hydrofobní** („lipofilní“)
 - **elektronové** (polární)
 - **sterického charakteru**
- případně **ostatní**, výše nezařaditelné, např. kombinované z více výše zmíněných příspěvků (molární refrakce a jiné), topologické indexy a další

1. QSAR

- nejobecnější tvar QSAR rovnice představuje **Hanschova rovnice**:

$$\log BA_i = k_1 \cdot \log P_i + k_2 \cdot (\log P_i)^2 + k_3 R_i + k_4 \cdot S_i + k_5$$

BA_i je biologická účinnost látky i

$\log P_i$ je rozdělovací koeficient látky i mezi n -oktanol a vodu

R_i je konstanta simulující reaktivitu látky i

S_i je konstanta simulující stérické uspořádání molekuly látky i

Hanschova rovnice, obsahující substituentové konstanty:

$$\log BA_i = k_1 \cdot \pi_i + k_2 \cdot \pi_i^2 + k_3 \sigma_i + k_4 \cdot E_s + k_5$$

π_i je Hanschova substituentová konstanta hydrofobnosti substituentu i

σ_i jeho Hammettova substituentová konstanta

E_s Taftova stérická konstanta a koeficienty k jsou čísla vycházející z regresní analýzy

1. FRAGMENTAČNÍ ANALÝZA

- ve farmakologii zakořenila spíše **fragmentální analýza**, jež výpočtem konstant *de novo* (Free-Wilsonova analýza) slouží při hledání struktury molekul nových účinných léčiv
- spočívá v představě, že každý fragment molekuly přispívá určitou, vždy stejnou, velikostí biologického účinku do biologické účinnosti celé molekuly:

$$BA_i = a_n + \mu \quad (n = 1, 2, 3, \dots)$$

a_n jsou příspěvky fragmentů molekuly

μ je biologická účinnost té části molekuly, která se nemění

- o předpokladu aditivity těchto příspěvků se vedou diskuse

2. READ ACROSS

- analogický přístup
- využití dat/informací o určité chemické struktuře a posouzení významu a relevance těchto informací vzhledem k jiné chemické struktuře
- postup, při kterém je jedna nebo více vlastností chemické látky odvozena na základě srovnání s chemickou látkou s podobnou strukturou či fyzikálně-chemickými vlastnostmi
- lze aplikovat k posouzení fyzikálně-chemických vlastností, toxicity, osudu látky v životním prostředí či ekotoxicity
- read-across může být provedeno kvalitativně nebo kvantitativně

2. READ ACROSS

- predikce toxicity metodou read-across se opírá o dva klíčové kroky:
- identifikaci strukturně podobné (analogické) látky, či identifikaci chemické substruktury, která je společná pro obě látky (jak pro látku výchozí se známými vlastnostmi, tak pro látku cílovou s neznámými vlastnostmi)
- využití předpokladu, že přítomnost vlastnosti/účinku pro látky lze odvodit z přítomnosti vlastnosti/účinku látky strukturně podobné
- na základě tohoto předpokladu lze usoudit, že strukturně podobné (analogické) látky budou (do určité míry) vykazovat podobné vlastnosti
- klíčovou otázkou pak je zhodnocení vzájemné strukturní podobnosti látek

2. READ ACROSS

- výsledkem kvalitativního přístupu read-across je určení **pozitivního/negativního** (respektive přítomnosti či absence) **účinku či vlastnosti** (například zda má daná látka senzibilizační účinky, či nemá)
- kvantitativní přístup read-across pak tento účinek kvantifikuje (například zjištění hodnoty **EC50**)

2. READ ACROSS – VARIANTY POUŽITÍ

- přístup read-across může být uplatněn jakýmkoliv ze čtyř následujících způsobů z hlediska počtu výchozích a cílových látek:
- jedna na jednu (jedna výchozí látka k odhadu vlastností jedné cílové látky)
- více na jednu (dvě nebo více výchozích látek k odhadu vlastností jedné cílové látky)
- jedna na více (jedna výchozí látka k odhadu vlastností více cílových látek)
- více na více (dvě nebo více výchozích látek k odhadu vlastností více cílových látek)

3. SDRUŽOVÁNÍ LÁTEK

- příloha XI k nařízení REACH umožňuje hodnotit vlastnosti chemických látek pomocí sdružování (např. do chemických „kategorií“)
- chemickou kategorii představuje skupina chemických látek, jejichž fyzikálně-chemické, toxikologické a ekotoxikologické vlastnosti jsou s největší pravděpodobností velmi podobné nebo sledují určitý pravidelný vzor v důsledku strukturální podobnosti
- na základě toho lze u látek sdružených v dané kategorii určit jejich fyzikálně-chemické vlastnosti, osud v životním prostředí, účinky na životní prostředí a účinky na lidské zdraví

3. SDRUŽOVÁNÍ LÁTEK

Bod 30 – Toxické pro reprodukci: kategorie 1

Látky	Indexové číslo	Číslo ES	Číslo CAS	Poznámky
Oxid uhelnatý	006-001-00-2	211-128-3	630-08-0	
Hexafluorokřemičitan olovnatý	009-014-00-1	247-278-1	25808-74-6	
Olovo, sloučeniny s výjimkou sloučenin olova uvedených na jiném místě této přílohy	082-001-00-6			A, E
Olovo, alkyly	082-002-00-1			A, E
Azid olovnatý	082-003-00-7	236-542-1	13424-46-9	
Chroman olovnatý	082-004-00-2	231-846-0	7758-97-6	
Octan olovnatý	082-005-00-8	206-104-4	301-04-2	
Bis(fosforečnan) triolovnatý	082-006-00-3	231-205-5	7446-27-7	
Octan olovnatý zásaditý; octan-hydroxid olovnatý	082-007-00-9	215-630-3	1335-32-6	

3. SDRUŽOVÁNÍ LÁTEK

- podobnosti chemických látek mohou být založeny na:
 - společné **funkční skupině** (např. aldehydová, epoxidová, esterová, atd.) vztahující se ke specifické aktivitě
 - společných **prekurzorech** nebo společných **rozkladných produktech** (např. přístup společné metabolické dráhy při zkoumání příbuzných látek jako například kyselin/esterů/solí)
 - **postupné a stálé změně** v celé kategorii (např. kategorie látek s rostoucí změnou v délce řetězce a výslednou změnou ve vlastnostech těchto látek)

Pokud stávající dostupné experimentální výsledky potvrzují, že chemické látky v dané kategorii vykazují shodné nebo předvídatelné vlastnosti, pak lze pro posouzení vlastností chemikálií využít interpolace (nebo v odůvodněných případech i extrapolace) namísto provádění dodatečných laboratorních zkoušek.

4. ANALÝZA TRENDU

- analýza trendu může být použita, pokud jednotlivé látky v dané kategorii vykazují pravidelné předvídatelné zvýšení nebo snížení účinku (například konstantní pokles hodnoty LD50 s rostoucí změnou v délce řetězce)
- interpolací či extrapolací lze pak predikovat vlastnosti látek v dané kategorii, jež jsou seřazeny podle hodnoty parametru, která determinuje daný účinek (například rozdělovací koeficient oktanol-voda v případě ekotoxicity)
- ve statistické terminologii je metoda analýzy trendu lineární regresní analýzou (respektive obvykle spíše multilineární regresní analýzou) a následnou interpolací či extrapolací
- obecně platí, že interpolace je vždy preferována před extrapolací, kterou lze využít jen ve velmi důsledně odůvodněných případech, neboť u extrapolace je vyšší riziko náhlé změny ve sledovaném trendu a tudíž riziko významné odchylky predikce

4. ANALÝZA TRENDU

- interpolace může být prováděna s vysokou mírou spolehlivosti, zejména pokud je řada známých experimentálních hodnot monotónní (všechny vykazují zvýšení nebo snížení)
- důsledná interpretace a zdůvodnění a patřičná obezřetnost při predikci je zapotřebí v případě, že jedna nebo více hodnot jsou vyloučeny z trendu

DOPLNĚNÍ DAT

	Chemikálie 1	Chemikálie 2	Chemikálie 3	Chemikálie 4	
Vlastnost 1	●	○	●	○	SAR/Read- Across
Vlastnost 2	●	○	●	●	Interpolace
Vlastnost 3	○	●	●	○	Extrapolace
Vlastnost 4	●	●	●	●	QSAR
Aktivita 1	○	○	○	○	







● známý datový bod ○ neznámý datový bod

VYUŽITÍ V PRAXI

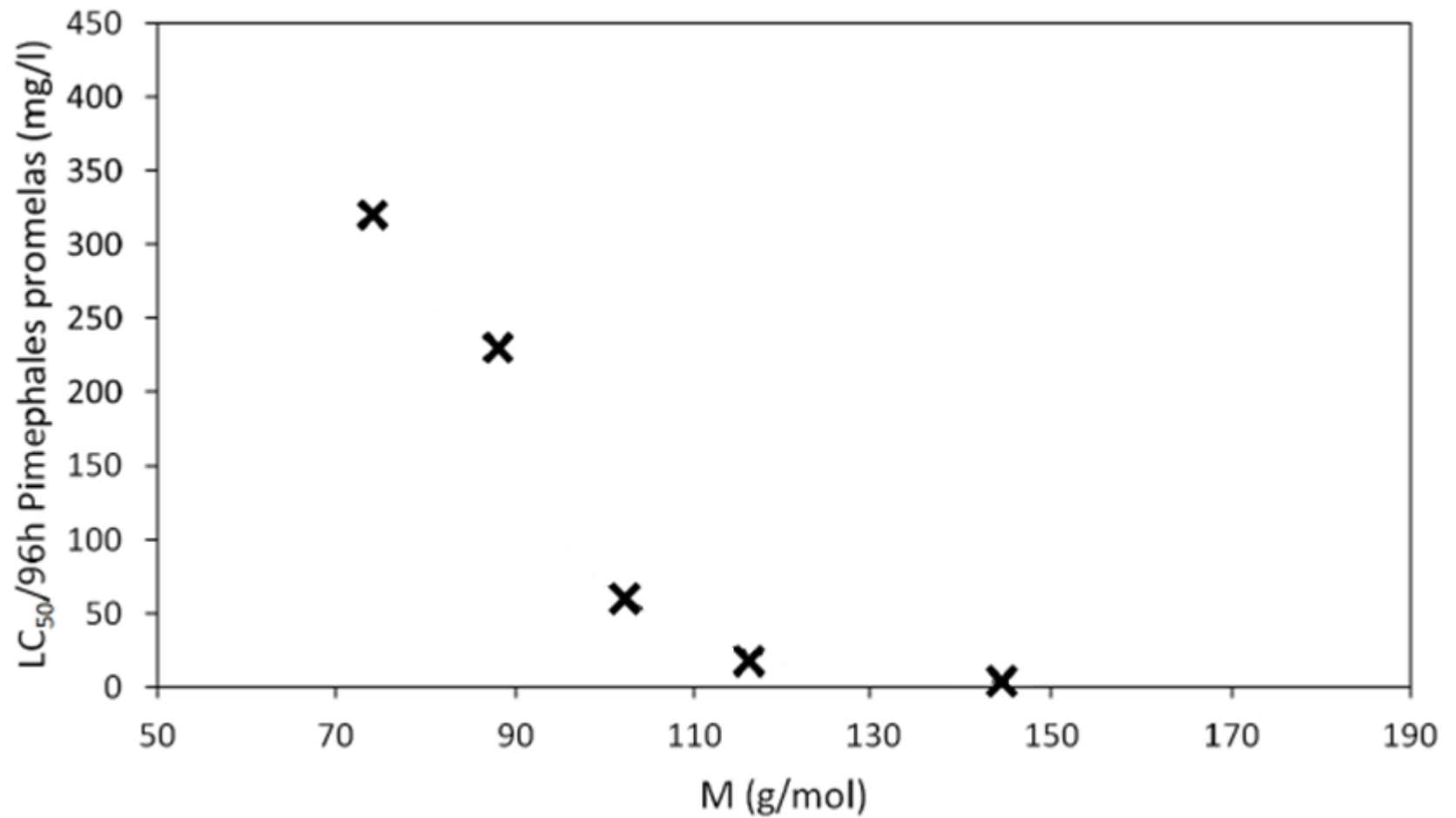
- Predikce ekotoxicity LC50/96h pro *Pimephales promelas* (analýza trendu)
- dobře použitelná pro homologické řady chemických látek (např. alkoholy, acetáty), nevhodná pro skupiny látek obsahující isomery (např. m-xylen, o-xylen, p-xylen)



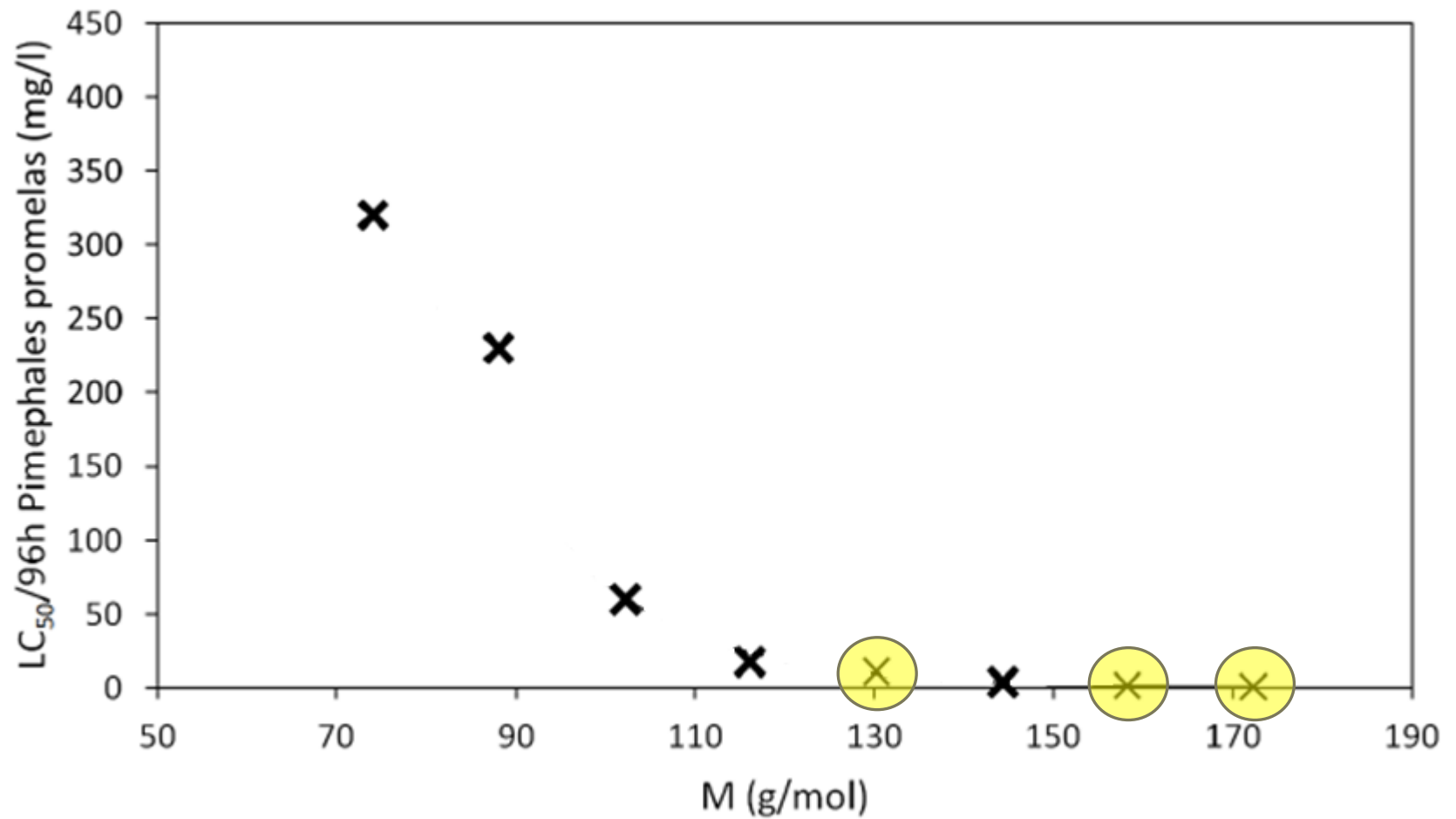
VYUŽITÍ V PRAXI

Látka	Hodnota LC ₅₀ /96h (mg/l)	M (g/mol)
Methyl acetát	320	74,08
Ethyl acetát	230	88,11
Propyl acetát	60	102,13
Butyl acetát	18	116,16
Pentyl acetát		 130,19
Hexyl acetát	4	144,21
Heptyl acetát		 158,24
Oktyl acetát		 172,27

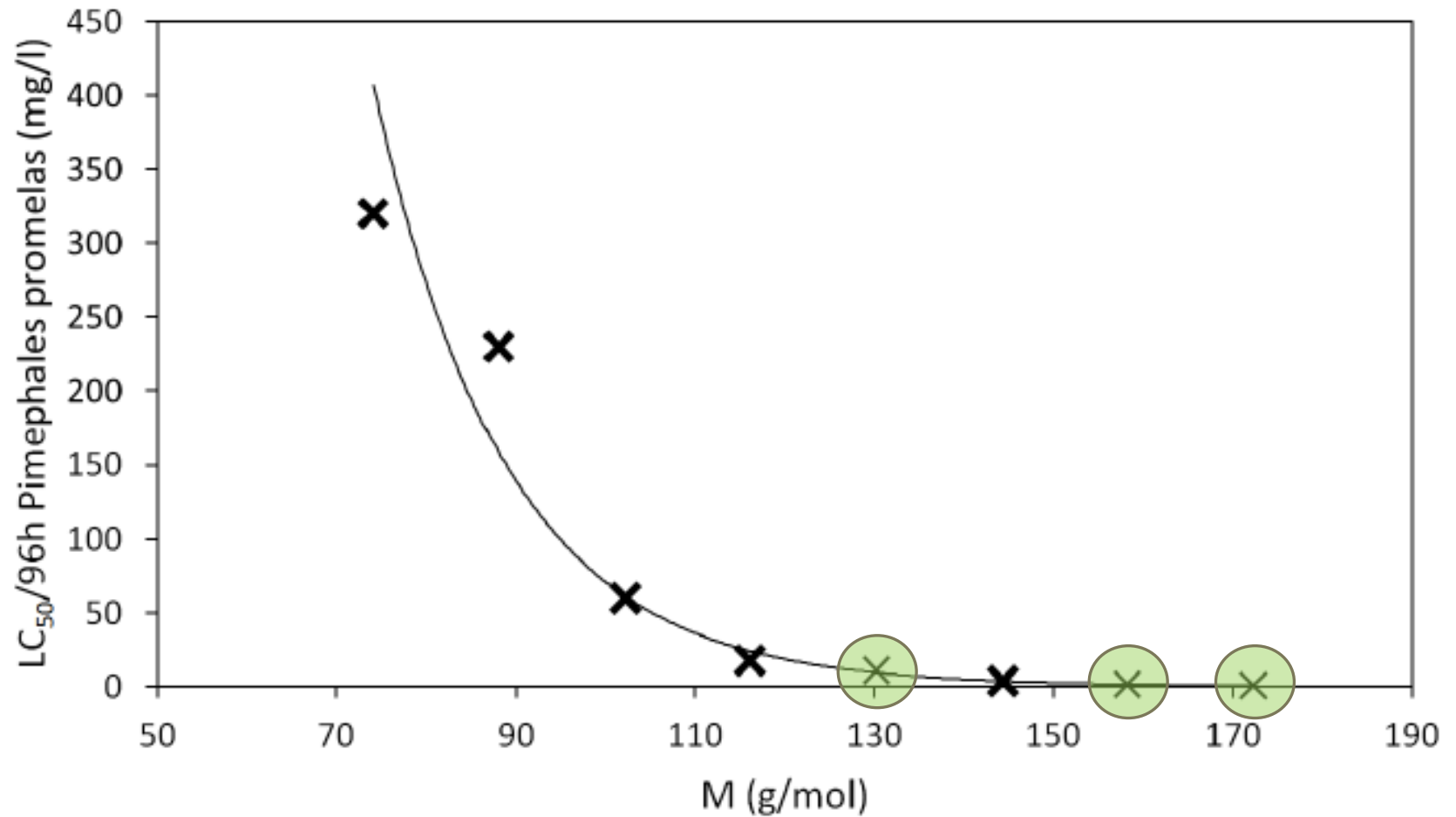
VYUŽITÍ V PRAXI



VYUŽITÍ V PRAXI



VYUŽITÍ V PRAXI



VYUŽITÍ V PRAXI

Látka	Hodnota LC ₅₀ /96h (mg/l)	M (g/mol)
Methyl acetát	320	74,08
Ethyl acetát	230	88,11
Propyl acetát	60	102,13
Butyl acetát	18	116,16
Pentyl acetát		130,19
Hexyl acetát	4	144,21
Heptyl acetát		158,24
Oktyl acetát		172,27

TOXIKOLOGIE POTRAVIN

ANEB CO NEJÍST

Mgr. et Mgr. Alžběta Kružicová

BÍLÉ JEDY

- mléko
- mouka
- cukr
- sůl
- tuk

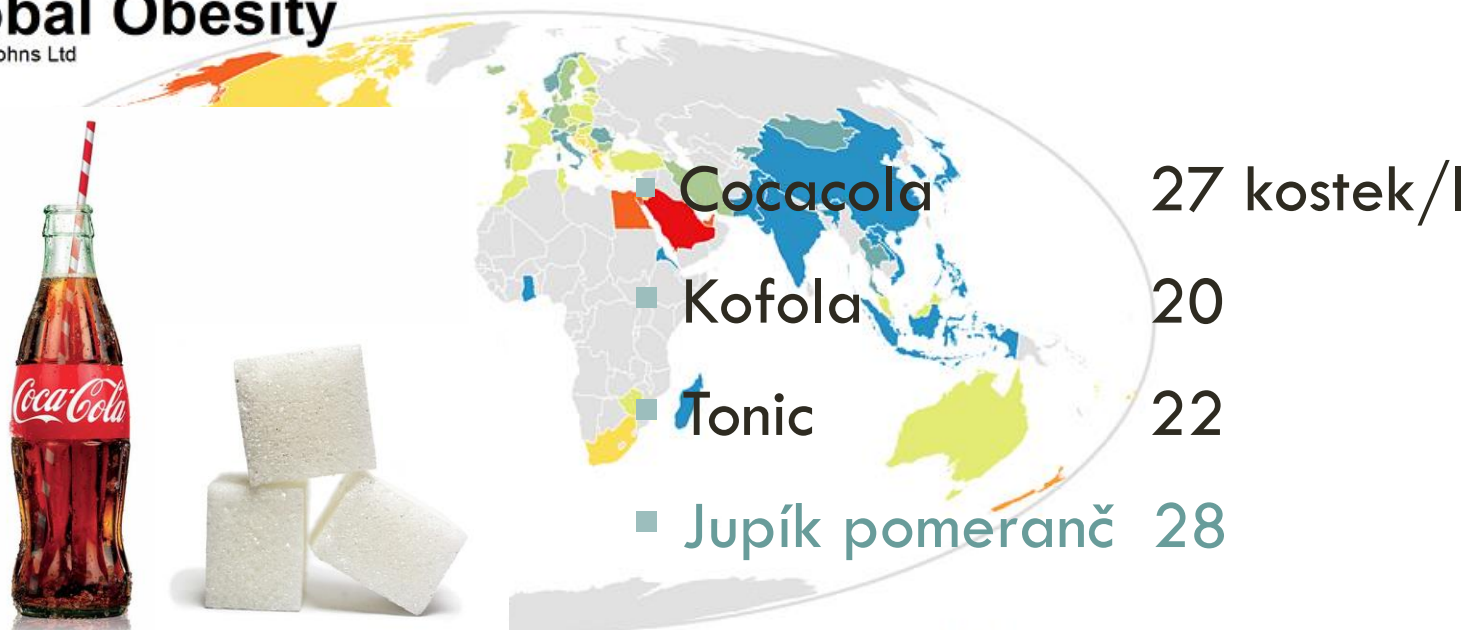


CUKR

- LD50 potkan 27,7 g/kg živé hmotnosti
- člověk: 1939 g
- obezita, metabolický syndrom, cukrovka

Global Obesity

© Lovell Johns Ltd



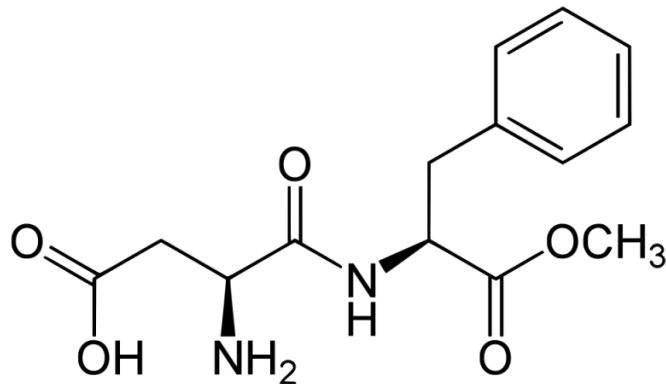
**The map uses the latest available data which varies in year of data collection.

www.lovelljohns.com

UMĚLÁ SLADIDLA?

■ Aspartam

- 200krát sladší než cukr, teplotně nestálý (+ acesulfam K)
- 50% fenylalaninu, 40% kyseliny aspartagové a 10% metanolu
- nadbytek fenylalaninu narušuje normální hladinu serotoninu v nervovém systému, což vede k depresím, emocionálním a psychotickým poruchám



UMĚLÁ SLADIDLA?

▪ Aspartam

- Z 0,35 l sladkého nápoje vznikne 18 mg methanolu, přičemž maximální doporučená (bezpečná) denní dávka methanolu je podle **FDA 7,1 až 8,4 mg na kilogram** hmotnosti příjemce (tj. pro 60 kg člověka je to 426 až 504 mg)
- při metabolizaci přírodních sladkých nápojů vzniká metanol také:
 - pomerančového džusu 23 mg methanolu
 - jablečný džus 29 mg
 - grepový džus 65 mg
 - **rajčatová šťáva 107 mg**
- při metabolizaci přírodních sladkých nápojů – na rozdíl od nápojů slazených aspartamem – vzniká ovšem současně i ethanol, který lidský organismus před škodlivými účinky methanolu chrání

UMĚLÁ SLADIDLA

- **Acesulfam draselný**
- v kombinacích s dalšími umělými sladidly
- stimuluje sekreci inzulínu, i když nezvyšuje hladinu cukru v krvi
- spojován s leukémií, rakovinou prsu, rakovinou brzlíku a chronickými onemocněními dýchacích cest

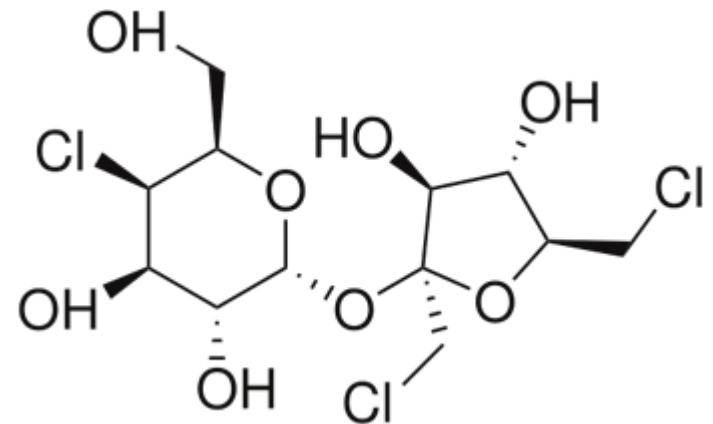
- **Kyselina asparagová**

- excitotoxin

- **Sukraloza**

- atomy chloru

- syndrom dráždivého tračníku, ulcerózní kolitida, Crohnově nemoci



SŮL

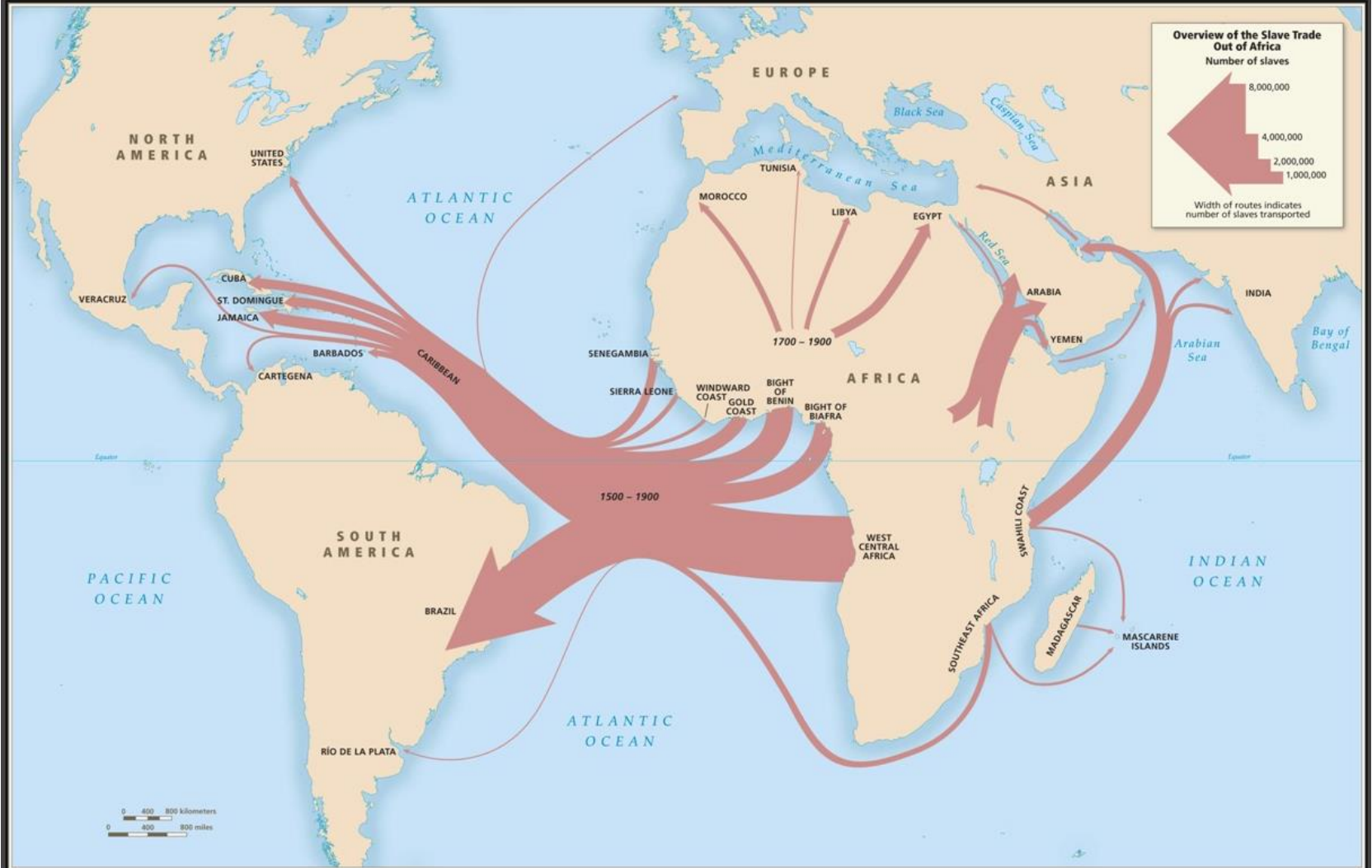
- doporučená denní dávka 5 g
- denní příjem 16,5 g ➔ 6 kg soli ročně



- cereálie 250 mg/šálek
- zeleninové šťávy 479 mg/šálek
- mražená jídla 750 mg/porce
- kečup 167 mg/lžíce
- sójová omáčka 1024 mg/lžíce

- smrtelná dávka pro člověka 150-280 g

Map 1: Overview of the slave trade out of Africa, 1500-1900



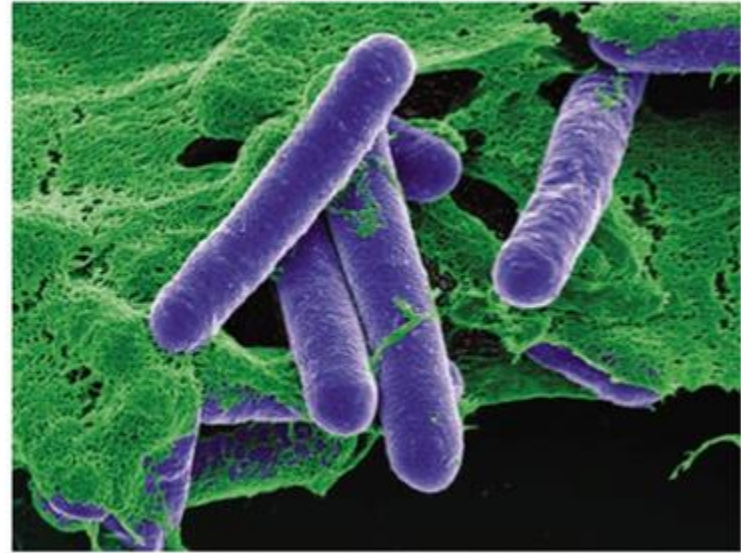
MASO

- **Nitráty (dusičnany)**
- často se přidávají jako konzervační činidlo do masa a masných výrobků
- konzervace např. šunky
- reakce s proteiny – tvorba **nitrosaminů**
- kouř může obsahovat karcinogenní substance



MASO

- *Clostridium botulinum*
- G+, anaerobní, sporulující tyčinka
- botulotoxin
- polypeptid, 1,3–2,1 ng/kg *i. v.*
- stabilní do 60°C



TĚHOTNÉ

- syrové mléko
- uzené maso
- lahve
- sýry (plísňové,



DOMÁCÍ ZVÍŘATA



- avokádo
- persin
- může poškodit srdce, plíce a jiné tkáně
- vysoký obsah tuku, což může způsobit žaludeční potíže, zvracení, v některých případech i zánět slinivky
- příznaky otravy patří dýchací potíže, zvětšení břicha a nadměrné hromadění tekutin v hrudníku
- množství, které může způsobit otravu, není přesně známo

DOMÁCÍ ZVÍŘATA



- čokoláda
- záchvaty, bezvědomí a smrt
- tmavší čokoláda je nebezpečnější
- příznaky se nemusejí projevit i několik hodin, přičemž smrt psa může nastat i do 24 hodin
- již 650g mléčné čokolády nebo 90g čokolády na vaření může zabít psa vážícího 10 kg



DOMÁCÍ ZVÍŘATA

- hrozinky
- mohou u psů způsobit selhání ledvin
- i malé dávky mohou být pro psa smrtelné
- fatální následky mohou nastat i v případech, kdy pes sní pár bobulí hroznů či rozinek opakovaně



DOMÁCÍ ZVÍŘATA



- lilie
- první příznaky otravy se dostavují během 2-12 hodin
- může se vyskytnout nadměrný slinotok, zvracení nebo apatie
- poškození ledvin se začne projevovat nadměrným močením, které ale do 24 až 48 hodin postupně ustává, až se produkce moče zastaví
- kočka trpí nechutenstvím, zvracením, dehydratací, podchlazením a nastává smrt
- nejpozději do hodiny, vyvolat zvracení aby se zabránilo vstřebání toxinu, poté se kočce podává aktivní uhlí

ZVĚŘ

- řepka
- akutní forma otravy z důvodu vysokého obsahu lehce stravitelných živin a nedostatku vlákniny
- dochází k vážným poruchám trávení – tympaniím, zánětům žaludku a střev
- přítomnosti vysokého obsahu dusičnanů, které po redukci na dusitany způsobují methemoglobinémii
- S-methylcystein sulfoxidu (SMCO)
- hemolytická anemie



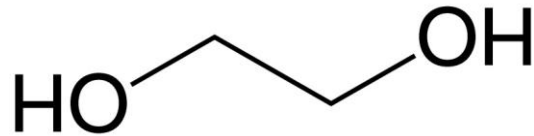
ZVĚŘ



- vodní květ
- cyanotoxiny (neuro, hepato a dermatotoxicita)
- anatoxin, mikrocytiny, nodulariny
- cholinergní agonista v synapsích parasymptiku a nervosvalových spojích
- výsledkem je paralýza svalů a úhyn na následky respiračního selhání
- dyspnoe, cyanózy, slabosti, generalizovaných tonickoklonických křečí, hypersalivace a úhynu udušením



ZVĚŘ



- ethylenglykol
- zvracení, pak nastane metabolická acidóza a kardiovaskulární poruchy, nakonec akutní selhání ledvin
- hlavní příčinou toxicity není ethylenglykol samotný, nýbrž jeho metabolity
- nejpodstatnějšími metabolity způsobujícími toxicitu jsou kyseliny glykolová a šťavelová



DĚKUJI ZA POZORNOST