



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

Metody *in silico* stanovení výpočtem



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace a rozšíření výuky zaměřené na problematiku životního prostředí na PřF MU (CZ.1.07/2.2.00/15.0213)
spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Predikční (eko)toxikologie

odhad účinku pomocí alternativních metod

- metody stanovení (eko)toxicity chemických látek, které dosud nebyly testovány experimentálně – k určení toxických vlastností látek bez použití pokusných zvířat
- metody pro modelování toxicity směsí
- využívají shromážděné pokusné údaje a detailní charakteristiky chemické struktury látek
- na jejich základě a zobecňováním poznatků vytváří expertní počítačové modely, pomocí nichž odhadují toxicitu
- **expertní programy** pro odhad toxického účinku výpočtem = soubory pravidel, znalostí, údajů o toxických indexech, statistického hodnocení, výpočetních programů molekulových deskriptorů a metod matematické statistiky
- !! K postavení dobrého modelu nutné široké soubory kvalitních dat !!



In silico modely

Tradiční i rychlé alternativní laboratorní testy

↓
rozsáhlé soubory dat (dobré kvality)

↓
vývoj a validace predikčních toxikologických výpočetních modelů

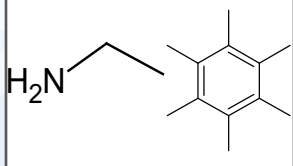
Modely pro odhad toxicity výpočtem (*in silico* testy):

- modely vytvořené a analyzované technikami QSAR
- kinetické fyziologické simulační modely (PBSP Physiologically-Based Simulation Models; PBPK Physiologically based pharmacokinetic Models)
= Modely ADME - simulují kinetiku procesů v organismu, které zodpovídají za koncentraci účinné látky na místě účinku, tedy absorpci (A), distribuci (D), metabolismus (M) a exkreci (E). Modely pro různé organismy a různé způsoby expozice jsou rozlišeny fyziologickými parametry organismů.
- modely založené na biologické podobnosti (read-across)
- expertní systémy založené na souborech znalostí a pravidel
- modely vytvořené technikami molekulové grafiky
- kombinace různých modelů s umělou neuronovou sítí (Artificial Neural Network).



Využití predikovaných dat pro hodnocení akvatické toxicity

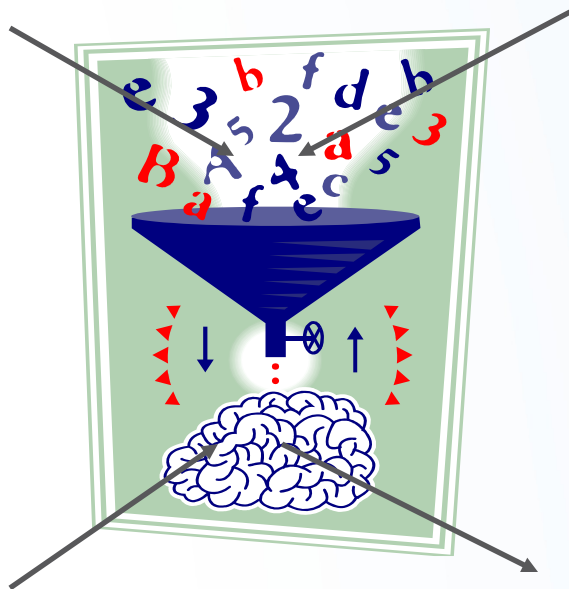
Toxikofory



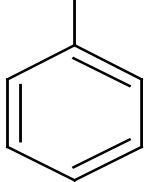
Znalosti

Rešerše...

Zkušenosti...



NH₂

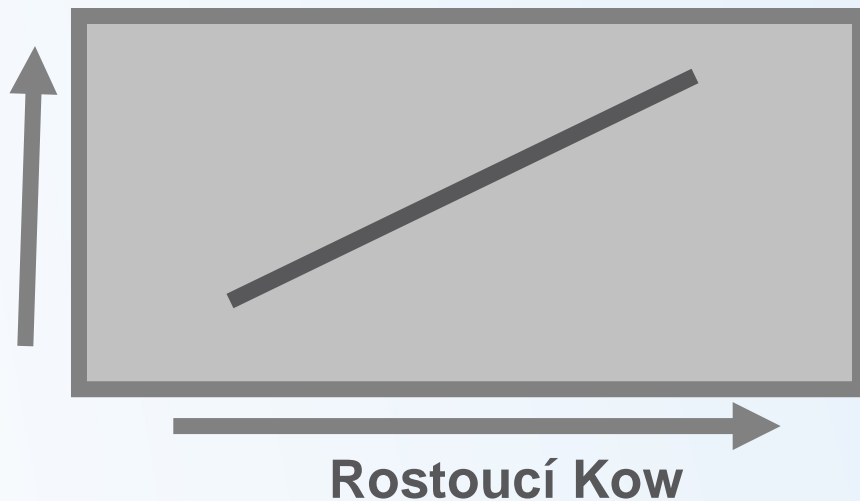


Látka
pravděpodobně
toxická pro ...

Predikovaná data

- Structure Activity Relationships (SARs)
- Cílem SAR je predikovat aktivitu/toxicitu látky – výsledky ověřitelné provedením experimentálních studií
 - Příklad: Toxicita obecně roste se vzrůstem K_{ow} pokud není příliš nízká rozpustnost
- Použití SAR je umožněno kompletací a revizí dat

TOXICITA



QSAR (Quantitative structure-activity relationship)

- kvantitativní modely vztahu struktury a aktivity látky
- předvídají vlastnosti chemických látek jako jejich toxický efekt či schopnost interakce s receptorem na základě jejich molekulárních struktur
- založeny na prostudování daného parametru (jako např. LC50, EC50, NOEC, log Kow, BCF nebo koncentrace způsobující subletální vliv) na skupině podobných látek (in vitro či in vivo), určení výsledných parametrů a postavení modelu vztahu strukturních charakteristik látky a sledovaného parametru
- mohou být použity k predikci toxicity (biologické aktivity, či jiných vlastností) např. u existujících látek, kde nejsou známy, i u látek, které dosud nebyly syntetizovány.

QSARs představuje přístup, který poskytuje možnost podstatného snížení počtu potřebných toxikologických experimentů



Vztah toxicity a chemické struktury

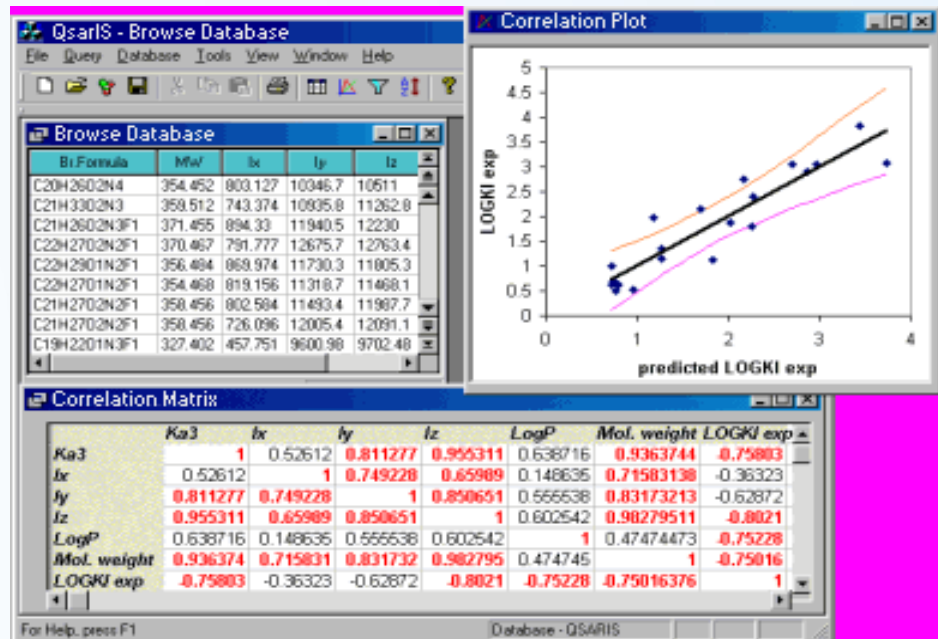
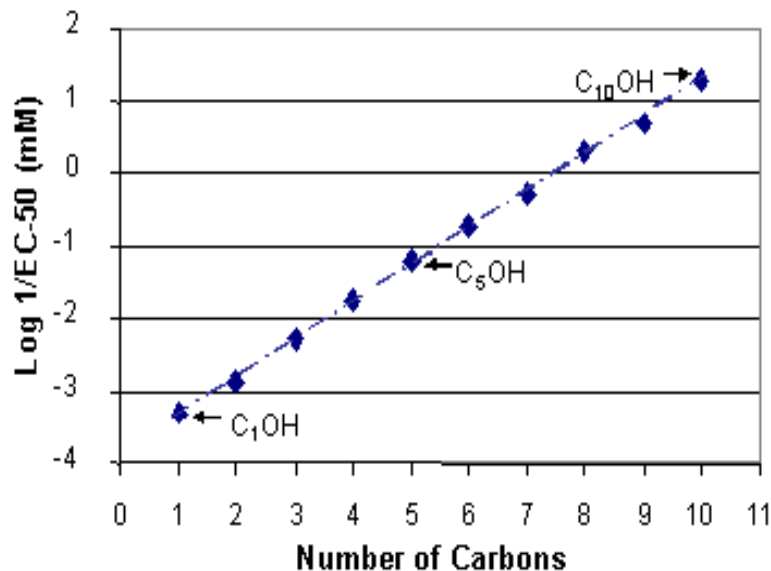
Statistické metody hodnocení toxicity

QSAR - quantitative structure-activity relationships

QSTR - quantitative structure-toxicity relationships

- Statistické hodnocení vlastností látek v chemických řadách
- Umožňují rychlý odhad toxicity (a dalších vlastností) látek na základě struktury a znalosti fyzikálních a chemických vlastností látky ze struktury vyplývajících.

SMP Toxicity vs. n-Alkanol Chain Length



QSAR

Quantitative Structure Activity Relationship

- Metoda odhadu biologického účinku na základě struktury látky – postavení QSAR modelu
- účinek(aktivita) vs. set adekvátních deskriptorů
- Srovnání podobných skupin látek
- Studium založeno na různých strukturních parametrech
- Počítačová simulace/predikce toxických, genotoxických a dalších účinků

- Aplikace korelací mezi vlastnostmi látky spojenými s molekulární stavbou a vlastnostmi spojenými s biologickým systémem
- Tyto vztahy je možno popsat matematickými vzorci nebo statisticky.

$$BA_i = f(X_i)$$



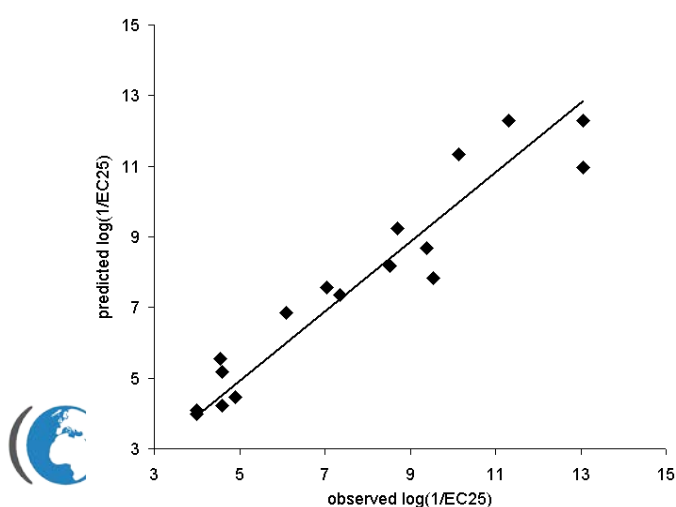
QSAR: vztah-korelace aktivity/toxicity se strukturou

- Parametry toxicity z testu IC_{50} , EC_{50}
- Struktura namodelována v softwaru, získány deskriptory molekuly (velikost, tvar, polarita...)
- Vícerozměrnými statistickými metodami hledány vztahy a nalezen nejlepší model
- Možná predikce toxicity (vlastnosti) pro netestované látky podobné struktury

Potence aza-PAHs k aktivaci AhR

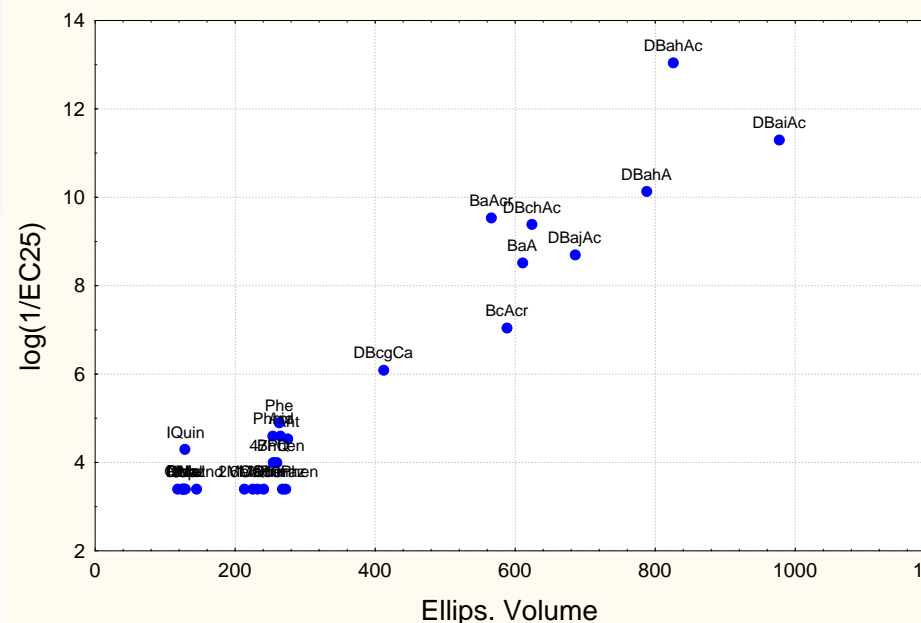
$$\log(1/EC25) = 1.14 \text{ délka} - 2.12 \text{ planarita} + 2.82$$

(R = .95)



$$\log(1/EC25) = 0.011 \text{ EllipsVol} + 1.544$$

(R = 0.95)



Základní matematické vztahy

$$\text{Biologická Aktivita} = \text{konst} + (C_1 P_1) + (C_2 P_2) + (C_3 P_3) + \dots$$

Biologická Aktivita = Velikost (kvantita) biologického účinku

- Parametry z testu (LD50, stupeň kancerogenity, dráždivosti, rozložitelnosti...)

$$r^2 = \frac{\text{regression variance}}{\text{original variance}}$$

r - Korelační koeficient – r^2 nabývá hodnot 0 až 1.

Molekulové deskriptory (P)

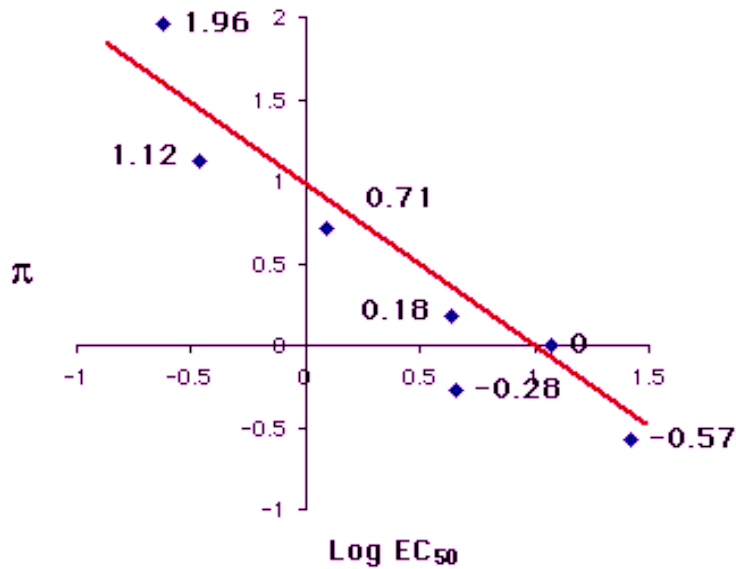
popisují strukturu molekuly látky či její vlastnosti

- teoretické vs. experimentální: velikost molekuly, molekulová hmotnost, počet a typ funkčních skupin, náboj molekuly, 3D struktura atd.
- fyzikálně-chemické vlastnosti: lipofilita, polarizovatelnost, bod varu, log P
- existuje několik tisíc deskriptorů



QSAR příklad: regrese

π – konstanta hydrofobicity
MR – Molekulární refraktivita
(souvisí s velikostí molekuly)



1)

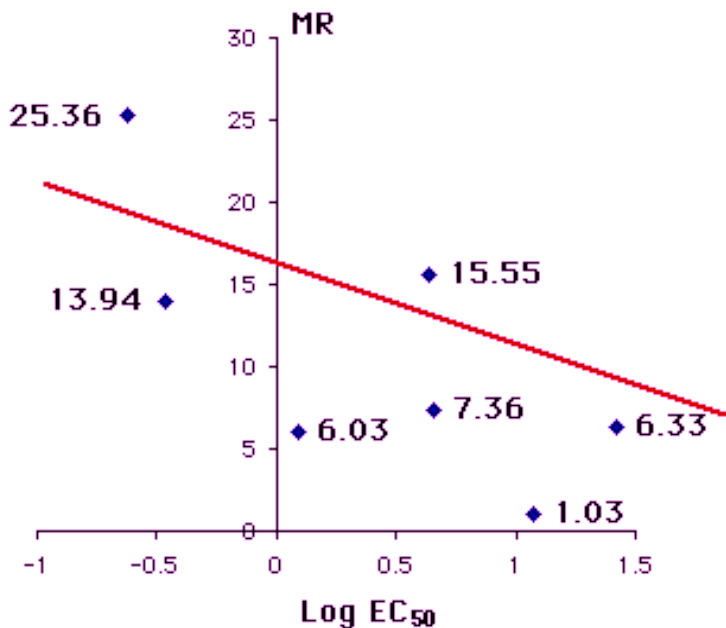
$$\text{Log EC}_{50} = 0.764 - (0.817 \pi)$$

$$r^2 = 0.89$$

2) $\pi + \text{MR}$

$$\text{Log EC}_{50} = 0.762 - (0.819 \pi) + (0.011 \text{MR})$$

$$r^2 = 0.89$$



QSAR

- nutná validace modelu, statistické testy významnosti modelu

MODELOVACÍ DATA
TRENOVACÍ DATA
VALIDAČNÍ DATA

QSAR – omezení využitelnosti

- Předpoklad působení shodným mechanismem
- Větší spolehlivost při interpolaci než extrapolaci

Nespecifická toxicita – především funkcí 3 hlavních vlastností látek

- Hydrofobicita
- Reaktivita
- Sterické faktory





INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace tohoto předmětu je spolufinancována
Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem
České republiky



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí