



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

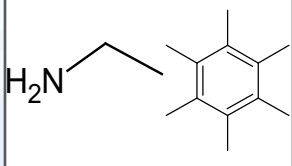
## **Modely pro odhad toxicity výpočtem (*in silico* testy):**

- 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

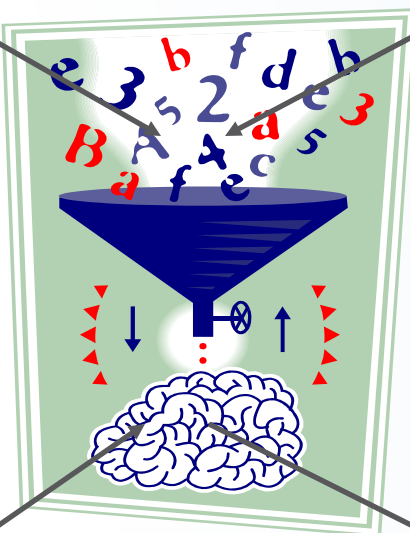
## Toxikofory



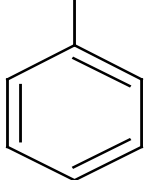
## Znalosti

Rešerše...

Zkušenosti...



NH<sub>2</sub>

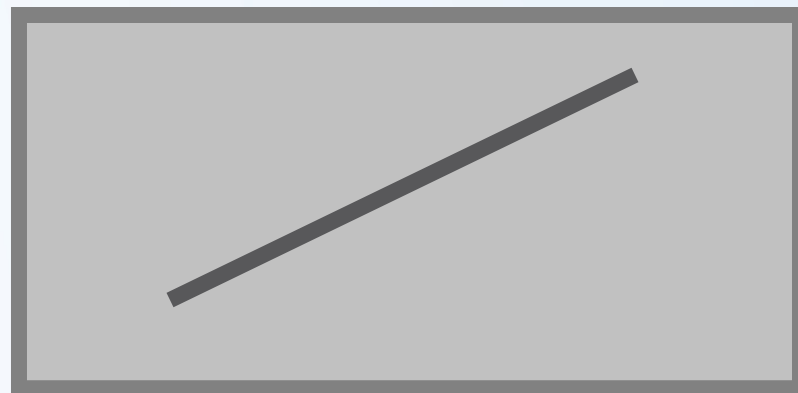


Látka  
pravděpodobně  
toxická pro ...

## 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



Rostoucí Kow



# 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

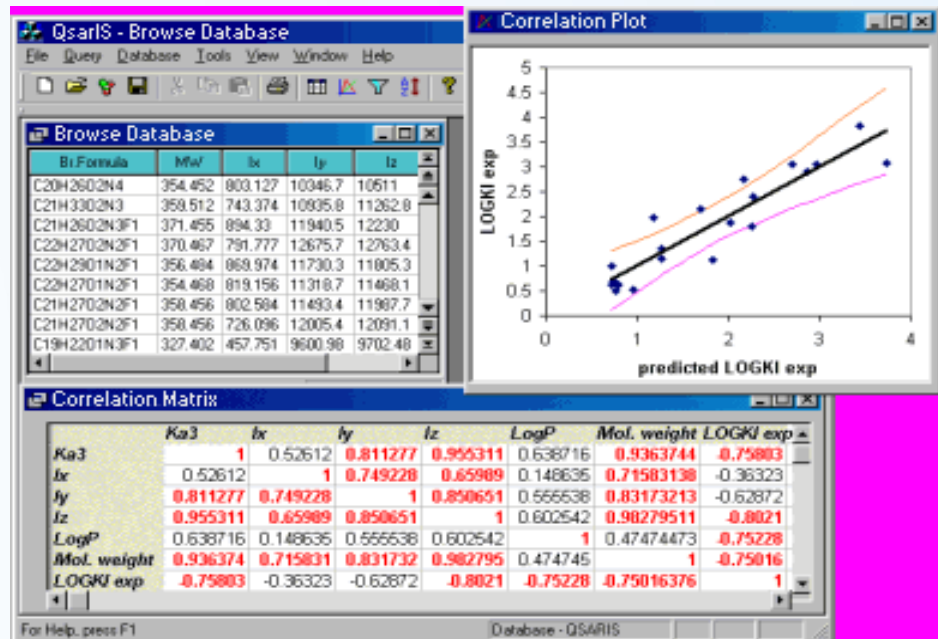
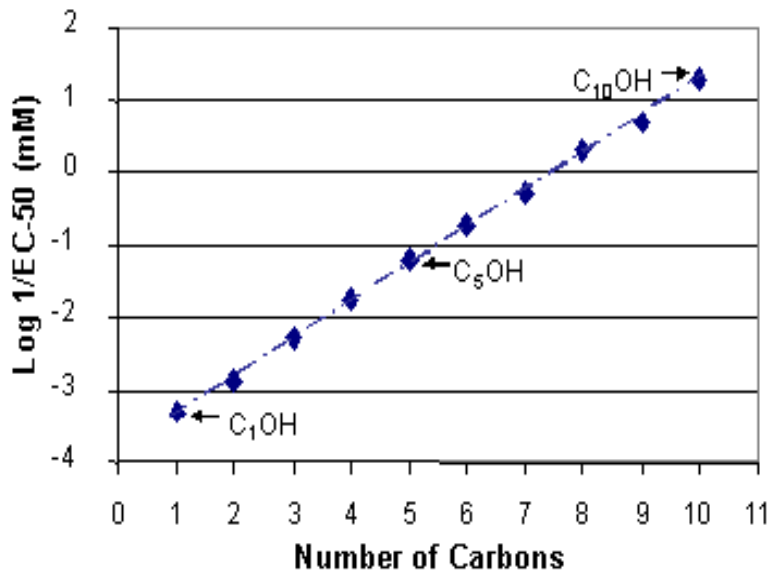
## Statistické metody hodnocení toxicity

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.

$$BA_i = f(X_i)$$



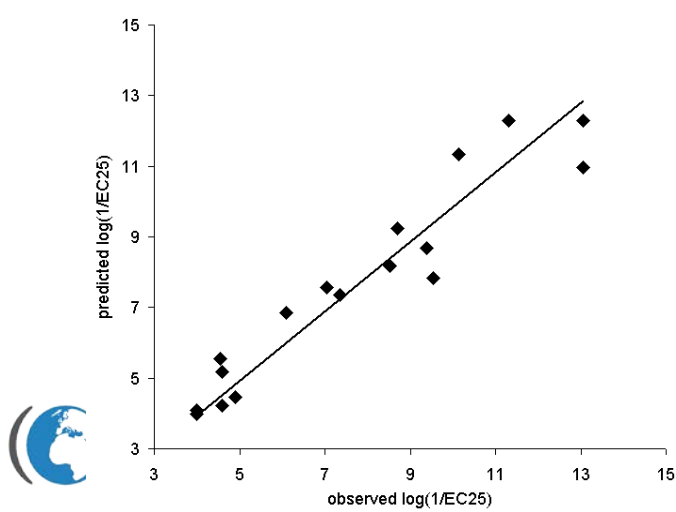
# QSAR: vztah-korelace aktivity/toxicity se strukturou

- 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

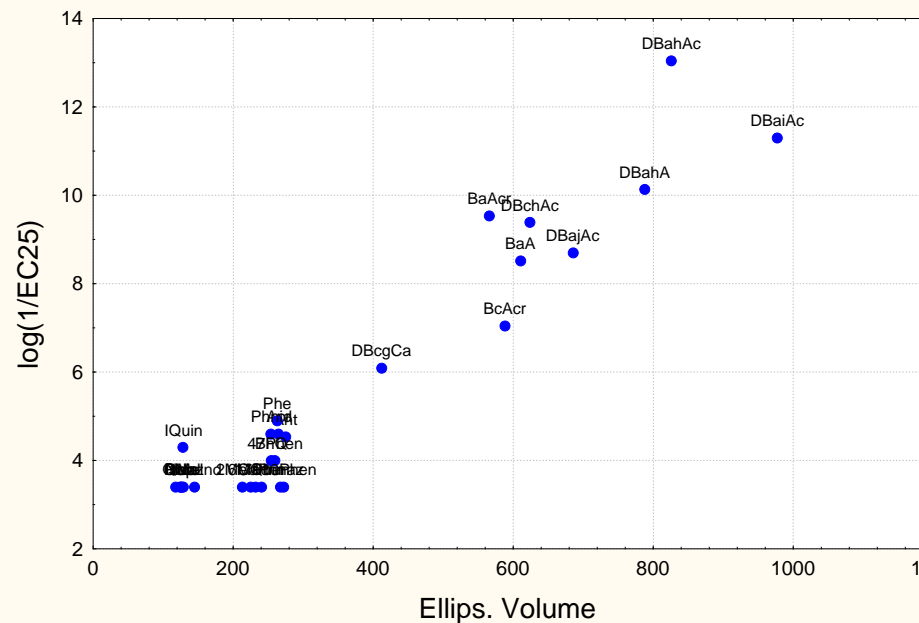
$$\log(1/EC25) = 1.14 \text{ délka} - 2.12 \text{ planarita} + 2.82$$

(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

- 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