

Алтернативни методи заменящи отчасти изпитванията върху животни и оценката на безопасността на химикалите и продуктите за хуманната и ветеринарната медицина и растителната защита

Оценката за безопасност на химичните вещества и техните съединения традиционно се основават на изпитване върху животни, но в продължение на много години ЕС насърчава заместването, намаляването и усъвършенстването на изпитванията върху животни. Също така се счита, че традиционните подходи за оценка на риска са недостатъчни, за да се предвиди адекватно потенциалният риск, свързан с дадено химично съединение или фармацевтичен продукт, ветеринарно медицински продукт (ВМП) или продукт за растителна защита (ПРЗ). Ето защо има голяма необходимост от разработване и внедряване на нови методи и стратегии като симулационни компютърни модели за прогнозиране на съдбата и поведението на химичните съединения и техните остатъци при изготвянето на по-ефективна оценка на безопасността, базирана на *in vitro* тестване в комбинация с изчислително моделиране *in silico*.



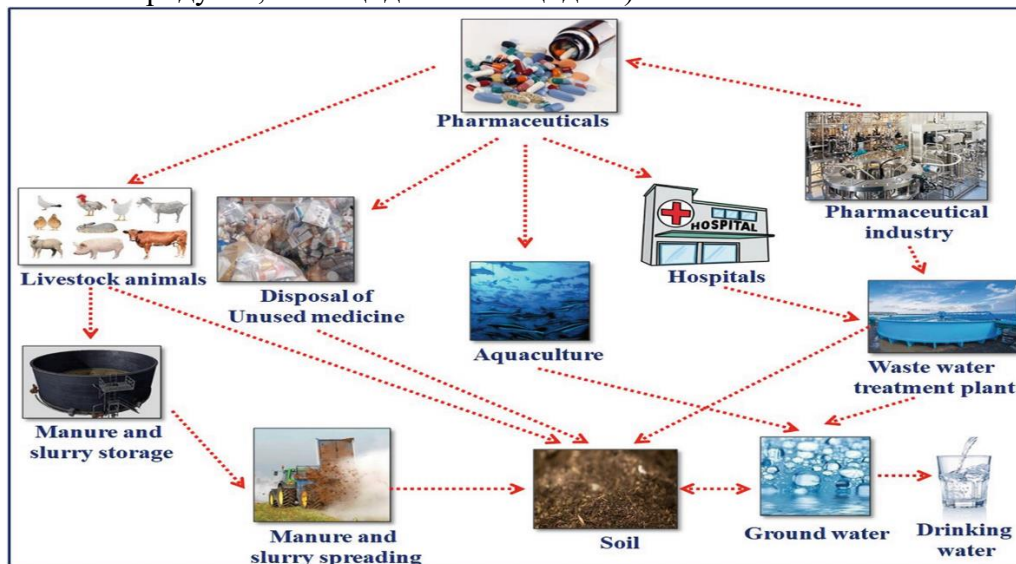
Фиг. 1: Ползи от внедряване на *in silico* изчислителните прогнозни модели като алтернатива на опитите с животни

Регламенти и директиви на ЕС, които са свързани с химичните съединения и продуктите в областта на хуманната и ветеринарната медицина и растителната защита, използвани при оценка на риска:

- Регламент (ЕО) № 1272/2008 относно класифицирането, етикетирването и опаковането на вещества и смеси (CLP);
- Регламент (ЕО) № 1107/2009 относно пускането на пазара на продукти за растителна защита;
- Регламент 283/2013 относно изискванията за данни за активни вещества;

- Регламент 284/2013 относно изискванията за данни за продуктите за растителна защита;
- Регламент № 528/2012 относно предоставянето на пазара и употребата на биоциди;
- Директива 2001/83 / ЕО (и нейните изменения) относно лекарствените продукти в хуманната медицина;
- Директива 2001/82 / ЕО (и нейните изменения) относно лекарствените продукти и продуктите във ветеринарната медицина;
- Стратегията на Общността за химичните смеси и експозицията на тях - "Mixtures" Vopp et al., 2015; Kienzler et al., 2016a;
- Стратегия на Общността относно ендокринните замърсители - Bremer et al., 2012; Munn et al., 2016;

Директива 63/2010/ ЕУ относно защитата на животните, използвани за научни цели, наредба 1223/2009 за козметичните продукти, платформата REACH (2007/2006) и регламент 1272/2008 за единната класификация, етиктирането и опаковането (CLP) са едни от многото ръководни документи от законодателството на ЕС, които силно насърчават подмяната на тестовете върху животни като част от оценката на риска. Ендокринните замърсители, многокомпонентните фармакологични продукти и наноматериалите са едни от многото примери за области, в които традиционната оценка на риска не е достатъчна. Необходими са нови интегрирани методи, базирани на задълбочени биологични познания. Поради това JRC (Joint Research Centre of the European Commission) разработва и тества нови методи, алтернативни на тестовете върху животни, които да се прилагат при комплексна оценка на безопасността на химикалите, а също така предоставя инструменти и бази данни за общодостъпно ползване в подкрепа на този подход. Едно от основните направления, по които се работи е да се подпомогне прилагането на политиката на ЕС в областта на химичните вещества (включително оценката на безопасността на промишлените химикали, химикалите в потребителските продукти, пестицидите и биоцидите).



Фиг. 2: Взаимовръзка между химичните съединения, фармацевтичната индустрия и кръговрата на химикалите в природата

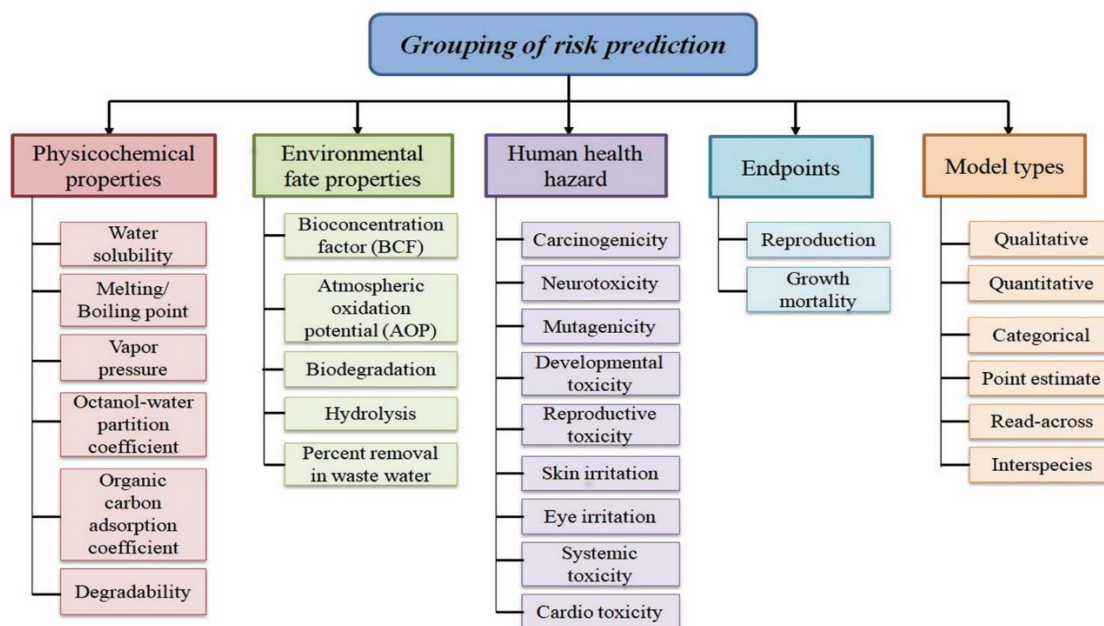
Към JRC (Joint Research Centre of the European Commission) е официално създадена Европейска референтна лаборатория (EURL ECVAM) през 2011 г, която да се занимава с научно валидиране на алтернативни методи, заменящи изпитването върху животни. Дейностите на EURL ECVAM, детерминирани ясно в Директива 2010/63/EU, обхващат

целия цикъл по разработване на алтернативни методи, т.е. от идеята, дизайна на метода, валидирането му, до регулаторното приемане, международното признаване и правилното му научно и практическо приложение.

Животните са тестови обекти за токсични реакции при хора и в тази връзка най-новото направление, в което JRC работи, използвайки познанията си за физичните, химичните и биологичните процеси, е разработване на мултидисциплинарен подход, основан на хипотези, който съчетава методите *in vitro* с изчислителни методи *in silico* заедно с "omics" подходи (напр. протеомика, геномика и метабономика за изследване на въздействието на токсичните вещества върху експресията на гени, протеини и клетъчни метаболити. Целта е да се идентифицират потенциалните токсични вещества въз основа на разбирането на техните механизми на биологично действие. Тези методи, понякога наричани "методи без изпитване", могат да се използват, за да се намали зависимостта ни от експериментални тестове, и по-специално изпитвания върху животни.

На практика тези методи могат да се използват във фармацевтичната индустрия при дизайна, разработката, тестването на въздействието на химичните вещества върху човека, животните и околната среда, както и в оценката на риска от употребата на тези продукти.

Математическото моделиране и симулационните модели са с интердисциплинарна насоченост и обединяват научни познания от области като медицина, фармакология, физика, химия, биология, оценка на риска, методи за анализ на структури, математически и инженерни методи (математическа статистика, планиране на експеримент, програмиране, софтуерен дизайн и др.). Математическото моделиране обединява също и съвременните тенденции на химичната информатика за 2D-QSAR, 3D-QSAR и 4D-QSAR моделиране.



Фиг. 3: Групиране областите на приложение на моделирането при оценка на риска

Важно е да се акцентира на добрите практики при създаване и валидиране на QSAR модели, съгласно официалните изисквания на OECD (Организацията за икономическо сътрудничество и развитие).

Примери за **алтернативни компютърни платформи**, програми и *in vitro* методи за тестване на субстанции и химични съединения, заменящи опитите с животни:

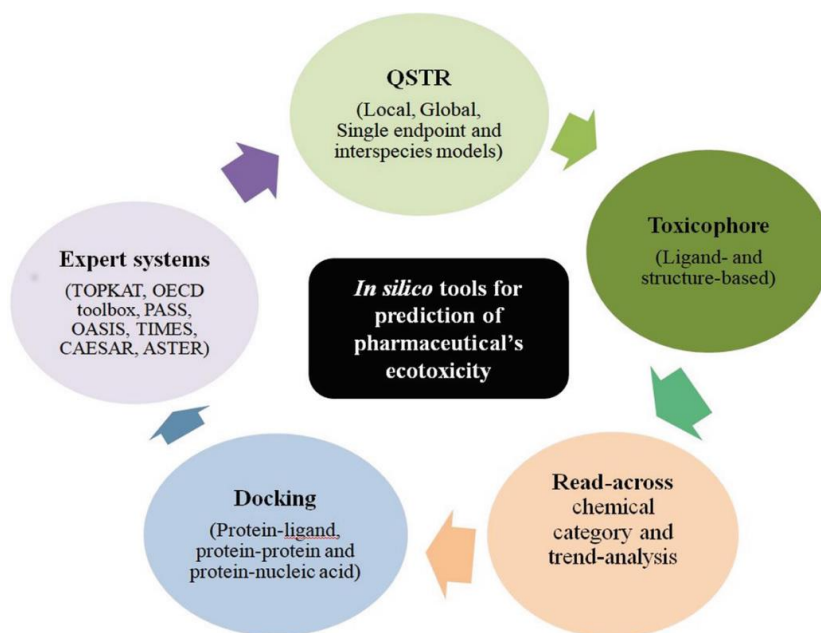
- Bioelution
- Toxtracker® Assay
- SENS-IS
- EDITOX
- γ H2AX/pH3 Biomarkers
- AR-CALUX Test Method
- Skin Sensitisation - Genomic Allergen Detection Test Method
- Micronucleus Test and Comet Assay in Reconstructed Skin Models
- Hen's Egg test for Micronucleus Induction (HET-MN)
- LuSens and U-SENS™ valid scientific method for generating information respectively on KE2 and KE3 of the skin sensitization
- Nanocomput project - toxicokinetic (TK), toxicodynamic (TD), in vitro and in vivo dosimetry, and environmental fate models

Видове изчислителни методи, използвани като алтернатива на тестването на животни:

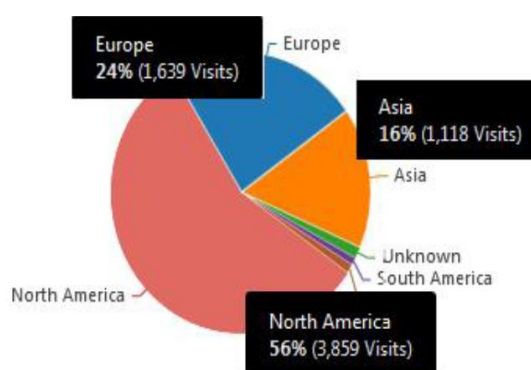
- Количествени модели на взаимовръзка между химична структура и физикохимични свойства (QSAR) - QSAR моделите прогнозираят взаимовръзките между биологичните или токсикологичните свойства на дадени химични съединения на база физикохимичните и структурните им свойства. Разработено е ръководство за валидиране на QSAR моделите от OECD. Примерни данни от модела са публикувани в базата данни на JRC.
- Групиране и класифициране на химичните съединения - В допълнение към QSAR, химичните свойства на определено съединение могат да бъдат прогнозирани чрез класифициране и определяне на химичните съединения на базата на структурно и биологично подобие и чрез съпоставяне на съответните химични свойства между аналозите. Използват се инструменти като Toxmatch и Toxtree както и внедряване на бази данни относно токсичността на химичните съединения като ChemAgora и CheLIST.
- Математически модели, базирани на физиологични параметри (PBK) - Физиологичните кинетични модели (PBK) са математически представени данни за абсорбцията, разпределението, натрупването, метаболизма и елиминирането (ADME) на химичните съединения при хора или животни. IVIVE инструментите към софтуера се използват за тълкуване на данни за токсичност от „in vitro - in vivo“ изпитвания и генериране на симулации относно концентрацията на тестовата субстанция в организма.
- За по-доброто проектиране и тълкуване на експериментите за токсичност in vitro, JRC разработи виртуално клетъчно изследване (VCBA). VCBA е математически модел, който симулира *in vitro* фармакокинетиката и фармакодинамиката на химичните съединения в организмите.

Количествените модели QSAR на взаимовръзка между структура и активност на дадено химично съединение са част от мултидисциплинарният подход и едни от най-широко използваните модели в химико-фармацевтичните, биологичните и инженерните науки. Исторически погледнато първият QSAR модел реално е въведен от Димитрий Менделеев, създал периодичната система на химичните елементи, като подредбата им се основава на атомната им маса, като дори са включени химични елементи, които до онзи момент не са били открити. Гарвин Ханш е основателят на компютърния модел

QSAR, по който биологичната активност на химичните съединения се „предсказва“, съблюдавайки физико-химичните им свойства.



На всеки три години ЕСНА, основната европейска институция за прилагане на законодателството на ЕС в областта на химичните вещества, докладва на Европейската комисия относно използването на методи за генериране на информация, които са използвани като алтернатива на тестовите с животни. Статистически погледнато, докладът за 2011 г. показва, че в нарастваща прогресия водещи компании вече са внедрили алтернативни методи, които да заменят тестването върху животни. Вторият доклад на ЕСНА, издаден през юни 2014 г., подчертава, че в периода 2010-2013 г. регистрантите по REACH са използвали широко QSAR моделирането като алтернативен метод за тестване на субстанции, изисквана от REACH, за да се гарантира безопасното използване на изследваните химични съединения. По данни от последният доклад на JRC за 2017 г. 8297 потребители и компании по целия свят употребяват QSAR моделирането и базите данни към него, като разгледано по- подробно от Северна Америка потреблението възлиза на 56%, в Европа - 24%, в Азия - 16%, Южна Америка, Африка, Океания и др – 4%.

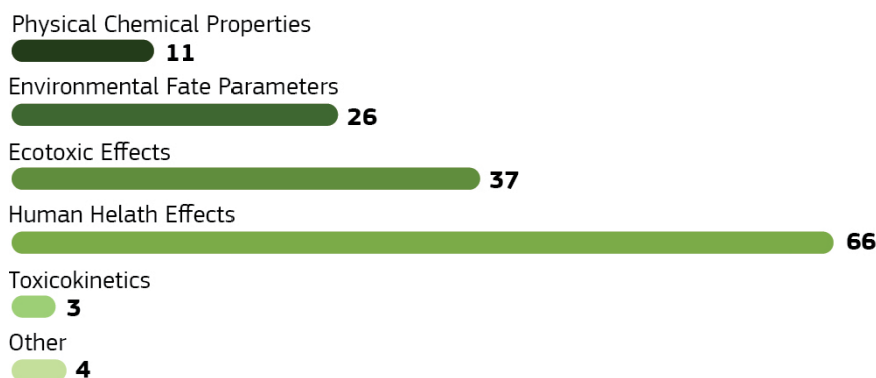


Фиг. 5: Потребление на QSAR моделите в световен мащаб

Подобно на останалите симулационни модели, QSAR моделите осъществяват взаимовръзки между серия от променливи "прогнозна стойност" (X) към ефикасност на променливата за отговор (Y), докато класификационните модели QSAR свързват

променливите на прогнозираната стойност с категоричната стойност на променливата на отговор. При моделирането с QSAR прогнозирането се основава на физикохимичните свойства или теоретични молекулни дескриптори на химичните съединения; QSAR Y-променливата би могла да бъде заложена да изразява биологичната активност на химичните съединения. QSAR моделите правят прогнозните взаимовръзки *in silico* между химичните структури и биологичната им активност и могат да бъдат използвани за изчисляване на прогнозно действие на новосъздадени химични съединения или съществуващи вече продукти. Като пример, биологичната активност може да се изрази количествено като концентрация на веществото, необходима за да се получи определен биологичен отговор.

Биологична активност = f (физикохимични / структурни свойства на в-во) + Error



Фиг. 6: Дескриптори, които най-често се използват в QSAR моделирането по данни на EURL ECVAM от 30/10/2017г.

Когато физикохимичните свойства се изразяват чрез числена стойност, може да се намери математическо количествено съотношение структура- активност между двете. Математическият модел, ако бъде внимателно валидиран, може да бъде използван за прогнозиране на реакция на организма към други химични съединения. QSAR моделирането произвежда прогнозни модели, получени от прилагането на статистически инструменти, свързани с биологичната активност (включително желаня терапевтичен ефект и нежелани странични ефекти) или физикохимичните свойства на химичните вещества (лекарства / токсични вещества / замърсители на околната среда) с дескриптори, представителни за молекулната структура или свойства. QSAR моделите активно вече се прилагат в много дисциплини, например: оценка на риска от прилагане на ВМП, ПРЗ и фармацевтични продукти в хуманната медицина, прогнозиране на токсичността и подпомагане вземането на регулаторни решения в допълнение към създаването на лекарства и оптимизирането на химичните свойства на съществуващи такива.

Създаването на качествен, работещ, достоверен QSAR модел зависи от много фактори, като например качеството на въведените данни, избора на дескриптори и статистическите методи за моделиране и за валидиране. Всяко моделиране на QSAR трябва в крайна сметка да доведе до статистически стабилни модели, способни да направят точни и надеждни прогнози за моделирания отговор на новите съединения.

QSAR предлага набор от алтернативни решения на проблема с поголовното тестване върху животни, основани на анализи на химическата структура от една страна и от друга - на различни молекулни дескриптори като хидрофобност, електронни свойства, топология, геометрични дескриптори, молекулна рефракция, стерични ефекти и др.

Основни бази данни, които могат да се интегрират при прилагане на QSAR модела:

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<http://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg
 тел. 02/4273056



- **TSAR (Tracking System for Alternative Test Methods Review, Validation and Approval in the context of the EU regulations on chemicals)** - <https://tsar.jrc.ec.europa.eu/>
- **JRC (Q)SAR Model Database при Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) моделите** - <https://qsar.db.jrc.ec.europa.eu/qmrf/>
- **Chemical Lists Information System (CheLIST)** - <https://ec.europa.eu/jrc/en/scientific-tool/chemical-lists-information-system>
- **DataBase service on ALternative Methods, DB-ALM** - <https://ecvam-dbal.m.jrc.ec.europa.eu/>
- **EURL ECVAM Search Guide and DB**- <https://ec.europa.eu/jrc/en/scientific-tool/eurl-ecvam-search-guide>
- **EU – Pesticide database** - <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>
- **Pesticide Properties DB** - <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/>
- **Biocidal Active Substances** - <https://echa.europa.eu/bg/information-on-chemicals/biocidal-active-substances>
- **The PubChem project** - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- **ChemSpider** - <http://www.chemspider.com/>
- **EPPO Global database** - <https://gd.eppo.int/>
- **ECOTOX** - <https://cfpub.epa.gov/ecotox/>
- **Други**

Задължителните стъпки, които трябва да бъдат спазени при внедряването на (Q)SAR модела за регулаторни цели са обвързани със следната информация: 1. Определяне/въвеждане на крайни точки; 2. Алгоритъм на действие и определяне на специфични дескриптори; 3. Определяне областта на приложимост; 4. Определяне на подходящи мерки за обезпечаване достоверността, акуратността и предсказуемостта на данните, които се получават; 5. Техническа интерпретация на резултатите.

Крайните точки могат да включват физико-химичните свойства на химичните съединения, биологичния ефект (човешкото здраве, здравето на животните или съдба и поведение на химичните съединения в околната среда) като параметри, които могат да бъдат измервани и следователно моделирани. Дадена крайна точка може да бъде детерминирана чрез различни експериментални протоколи и при различни експериментални условия. При химични съединения, които са новосъздадени може да се екстраполират данни от съществуващо съединение с подобна химична конфигурация и принадлежащо според класификацията на база физикохимичните си свойства към същата група.

Валидиране на QSAR моделите:

„По същество всички модели са грешни, но някои модели са полезни!“

George E. P. Vox

Валидирането на QSAR моделите е една от най-значителните стъпки от проверката на надеждността, предсказуемостта и точността на всеки QSAR модел, за да бъдат прогнозните стойности максимално доближаващи се до реално получени данни от проведени експерименти. Валидирането на симулационните модели според OECD

ръководните документи е процес и включва оценка на качеството на модела, приложимост, интерпретация/ анализ на данни и статистическа оценка. Стратегиите за валидиране до голяма степен зависят от оценката на качеството на модела чрез различни показатели за валидиране.

Валидирането на симулационните модели QSAR включва няколко етапа:

- Стъпка 0: Събиране на информация
- Стъпка 1: Предварителен анализ на информацията
- Стъпка 2: Внедряване на класификационни дескриптори
- Стъпка 3: Търсене на структурни сигнали
- Стъпка 4: Предварителна оценка
- Стъпка 5: Обратна връзка
- Стъпка 6: (Q) SAR прогнози
- Стъпка 7: Заключителна оценка

Видове методи за моделиране:

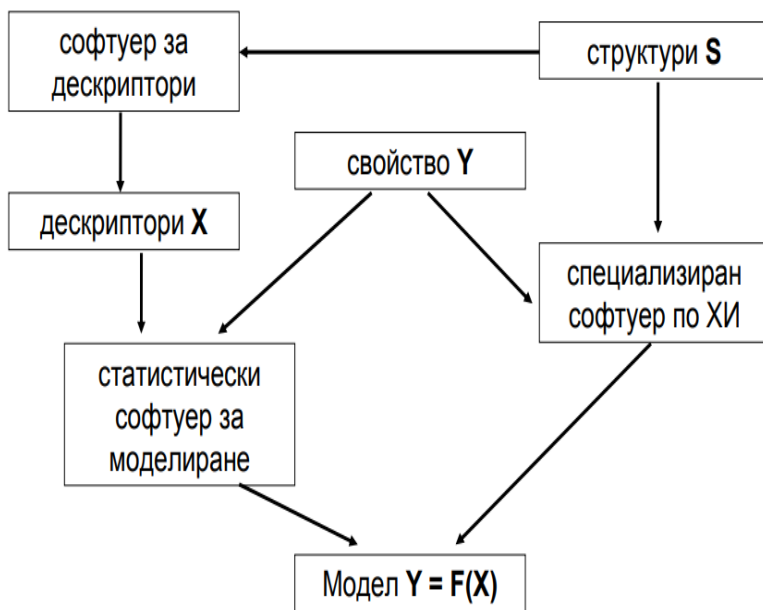
- ULR - линейна регресия с една променлива
- MLR - линейна регресия с много променливи
- PCA - анализ на главните компоненти
- PCR - регресия по главните компоненти
- PLS - метод на частичните най-малки квадрати
- ANN - изкуствени невронни мрежи
- “Размито” клъстериране и регресия (Fuzzy Clustering)
- KNN - метод на най-близките К съседа GA - генетични алгоритми

Структури

Целево свойство
за моделиране

Матрица с
дескрипторите

$$S = \begin{pmatrix} S_1 \\ S_2 \\ \cdot \\ \cdot \\ S_n \end{pmatrix} \quad Y = \begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \cdot \\ \cdot \\ y_n \end{pmatrix} \quad X = \begin{pmatrix} x_{1,1} & x_{2,1} & x_{3,1} & \dots & x_{m,1} \\ x_{1,2} & x_{2,2} & x_{3,2} & \dots & x_{m,2} \\ \cdot & \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ x_{1,n} & x_{2,n} & x_{3,n} & \dots & x_{m,n} \end{pmatrix} \quad \text{a)}$$



б)

Фиг. 7 а, б: Най-общо компютърният модел би могъл да се опише по следният начин: $Y = F(X)$.

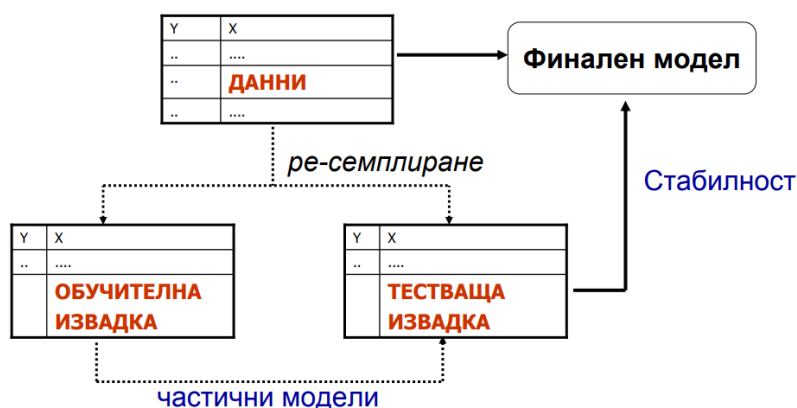
Всяка извадка с данни се състои от следните компоненти: S, Y, X. Дескрипторите X в общия случай са функция от структурата на съединението $X = f(S)$.

За да бъде резултатът от (Q) SAR анализа надежден за дадено химично съединение, той трябва да бъде генериран от научно валиден (Q) SAR симулационен модел. Оценката на база симулационните модели (Q) SAR може да бъде или да не бъде адекватна (съответстваща на целта), в зависимост от това какви крайни точки са избрани и зададени предварително, от което зависи последващо и надеждността на моделираните резултати.

Фиг. 8: Общ принцип на външно валидиране на модела QSAR

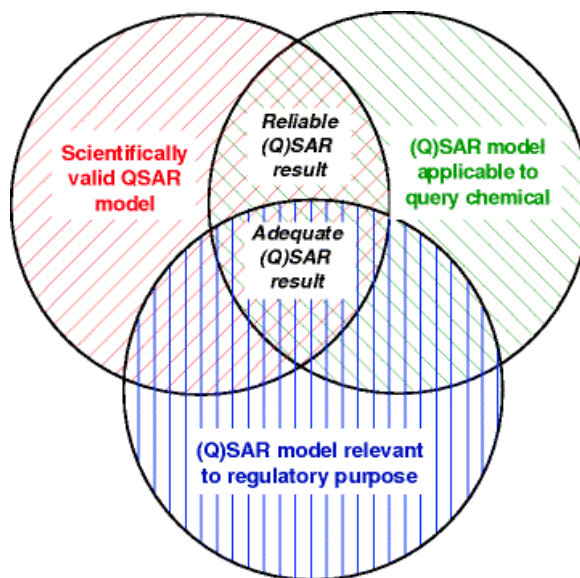


Фиг. 9: Общ принцип на вътрешно валидиране на модела QSAR



При валидирането на модел се съблюдават най-вече: качество на приближението (Goodness-of-fit), статистическа значимост на изчислените параметри, стабилност (Robustness), прогнозираща способност (Predictability), област на приложение (Applicability Domain).

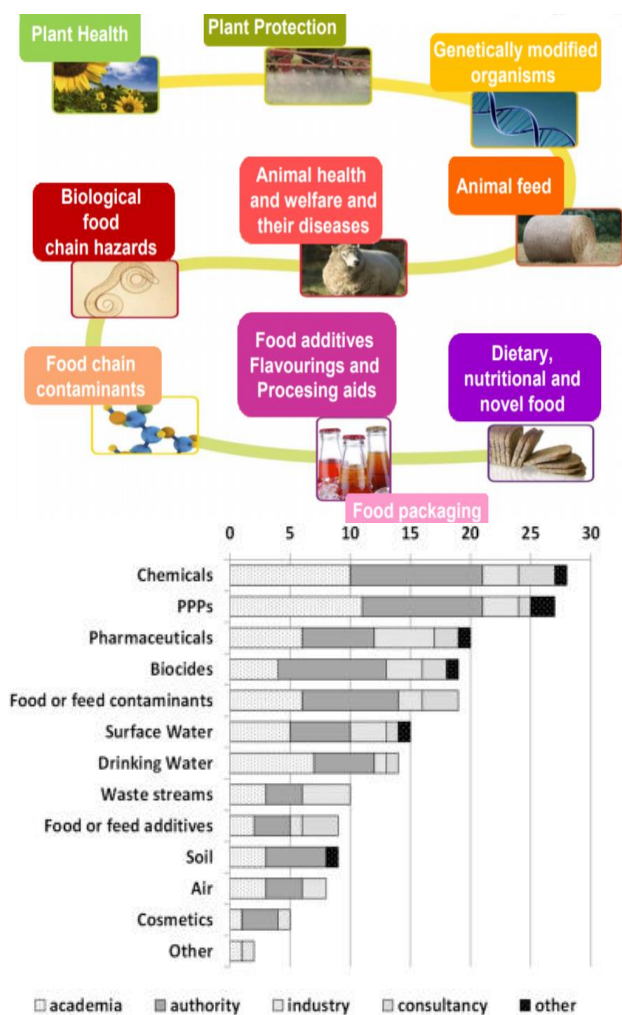
В официалните изисквания на OECD за QSAR и QSPR моделите не се препоръчва употребата на класически коефициент на корелация r^2 , а употребата на Q^2_{F1} . Оценяването на външен тест чрез коефициента Q^2_{F1} е адекватно само, когато експерименталните стойности на тестващата извадка са разпределени както стойностите на обучаващата извадка.



Фиг. 10: Кръговете се отнасят за моделите (Q)SAR, докато кръстосванията се отнасят до някои (Q)SAR резултати

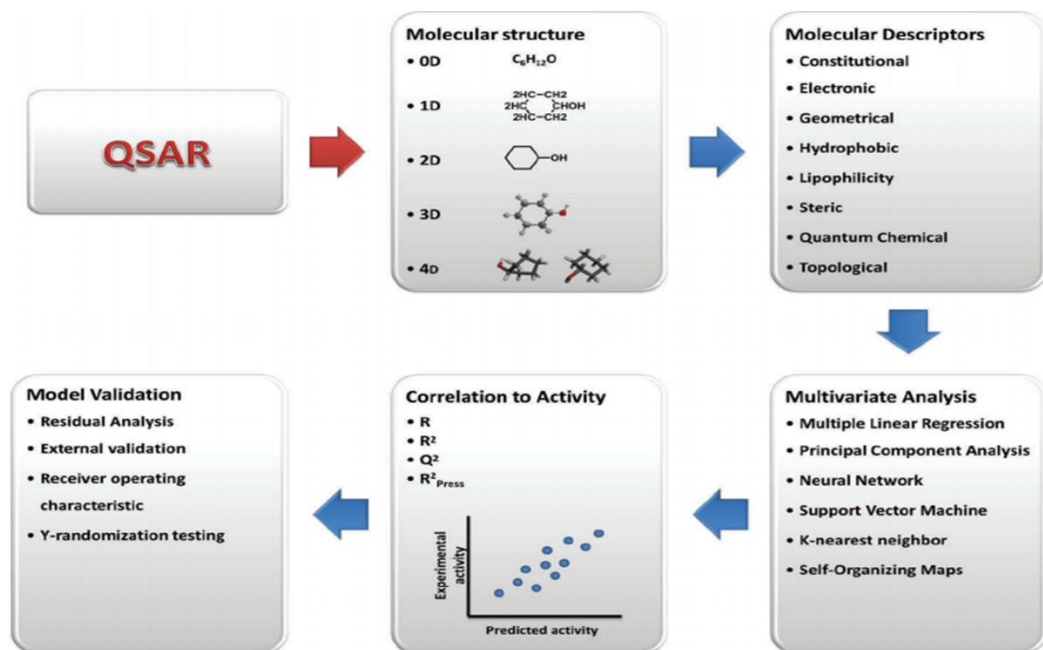
Приложения на моделите QSAR и примери:

Фиг. 11: От фермата до вилицата и употреба на моделите по отрасли и по групи потребители:



При оценка на риска от употребата на продукти за растителна защита (ПРЗ) и съдбата и поведението им в околната среда също и от приложението на ветеринарномедицински препарати (ВМП) и техните остатъци все по- често се прилагат прогнозни статистически симулационни модели.

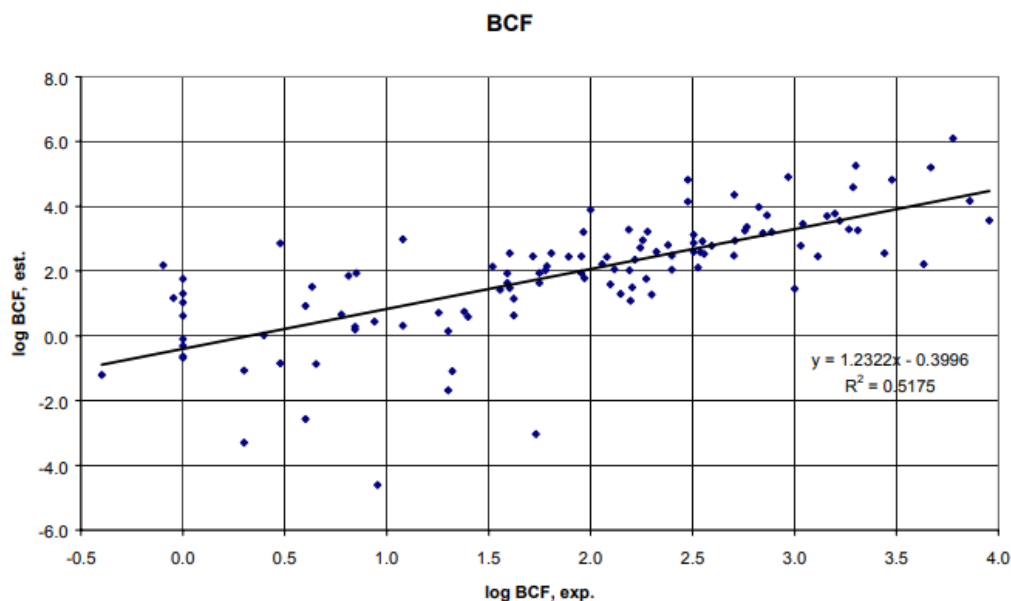
- Относно ПРЗ симулационните модели, които най- често се прилагат са: CAKE, ESCAPE, ETX 2, FOCUS PEARL, FOCUS PELMO, PRZM_GW, SWAN, FOCUS SWASH, FOCUS TOXWA, PWC, SCI-GROW, AgDRIFT, КАБАМ и други. Крайните точки и факторите, които биват съблюдавани и включени в моделирането са основно физикохимични: водоразтворимост; адсорбция в почвата и утайките; изпаряване/ летливост; органично и неорганично разграждане на ПРЗ, активните вещества и техните метаболити; биоаккумуляцията им посредством различни начини (орален, дермален, инхалаторен, трансплацентарен), температура на разграждане, на топене и на кипене; дисоциационна константа; коефициент октанол- вода s ($\log K_{ow}$) и др. Допълнителни данни за концентрация на активните вещества и техните остатъци в различни условия на околната среда (видове почва, въздух, вода и седимент), време на полуразпад на активните вещества и остатъчни количества както и времето на пълно разграждане на активното вещество до метаболитите му също могат да бъдат зададени.



Фиг. 12: Пример за етапите в QSAR анализа при оценка на риска и одобрение на ПРЗ

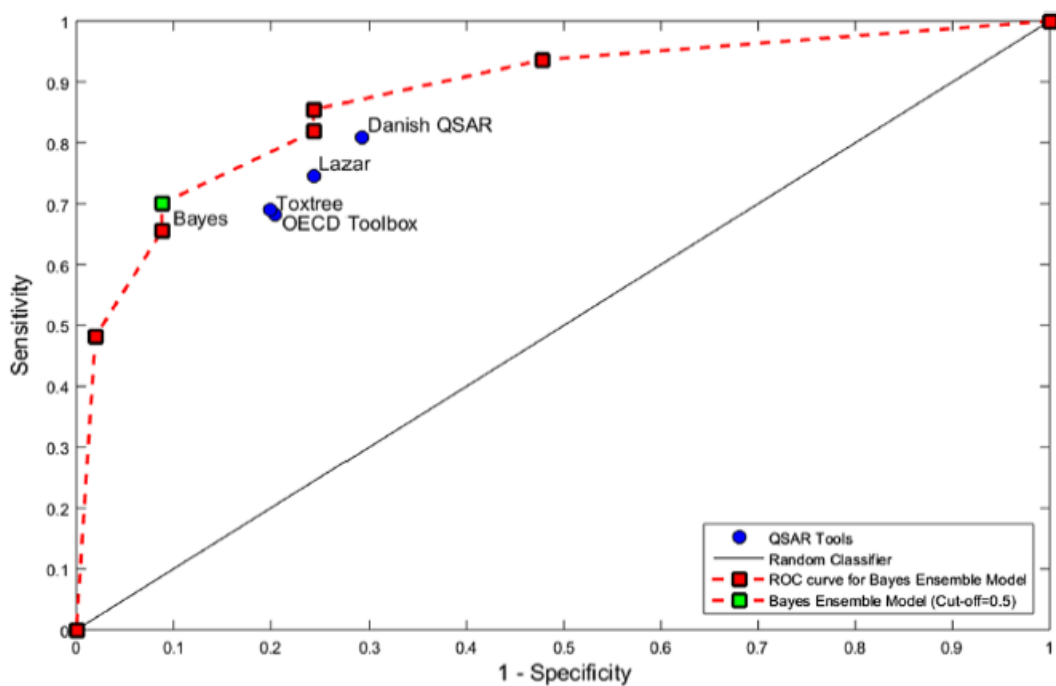
Резултати могат да се получат за:

- Допустима дневна доза (ADI)
- Летална доза 50 (LD₅₀)
- Летална доза 90 (LD₉₀)
- Допустимо ниво на експозиция на оператора (AOEL)
- Най- ниското ниво (доза/концентрация), при което не се наблюдава ефект от токсиканта върху организма (NOEL)
- LOEL – най- ниското ниво, при което не се наблюдава ефект от действието на химичното съединение върху организма
- NOAEL – най- високото ниво, при което не се наблюдава вреден/токсичен/ канцерогенен ефект върху организма при употребата на ПРЗ
- LOAEL – най- ниското ниво, при което не се наблюдава вреден ефект върху организма от приложението на ПРЗ, активните му вещества и остатъците му.
- MRL – максимално допустима граница на остатъчни вещества
- ARfD – acute reference dose – остра референтна доза
- Категоризиране на дадено вещество като канцерогенно или мутагенно
- PEC_{soil}, PEC_{gw}, PEC_{sw/sed}, PEC_{air} – прогнозни екологични концентрации на активните вещества, техните метаболити и ПРЗ в почва, подпочвени води, повърхностни води и седимент и въздух.
- Фактор на безопасност (FS) – определя се на база NOEC, LOEC
- Хемотерапевтичен коефициент (ХК) = максимална поносима доза / максимална ефективна доза
- Остра и хронична токсичност
- Други



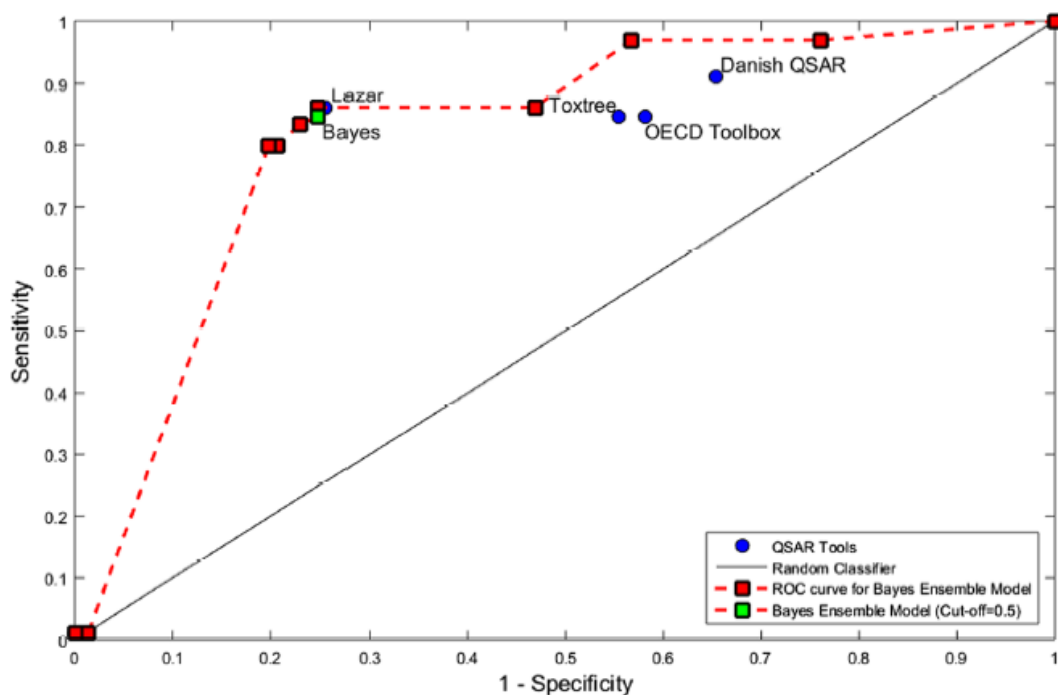
Фиг. 13: Пример за сравняване на фактора за биоакмулиране на ПРЗ при водни организми чрез QSAR анализ и чрез проведени реални полеви опити. Биоакмулирането (биоконцентрационен фактор (BCF) във водните организми) се определя като съотношение между концентрацията на химичното вещество в организма и концентрацията във вода. Корелацията между експерименталните стойности и изчислените стойности изглежда приемливо с корелационен коефициент $r^2 = 0.52$.

- Относно ВМП и фармацевтични продукти в хуманната медицина някои от моделите, които най- често се използват са: Derek for Windows & Meteor, Leadscope FDA Model Applier, Predictive Data Miner, MC4PC & META, BioEpisteme & Integrity, QSARIS (Scimatics, MDL-QSAR), Toxtree, Lazar, OECD Toolbox, Danish QSAR и други.



a Air Toxins Dataset

a)

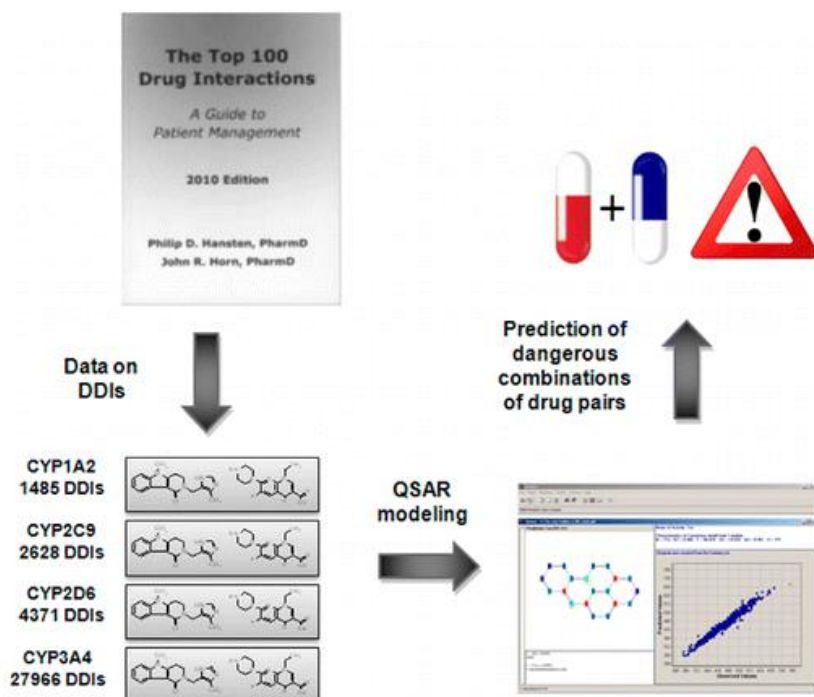


b CPDB Dataset

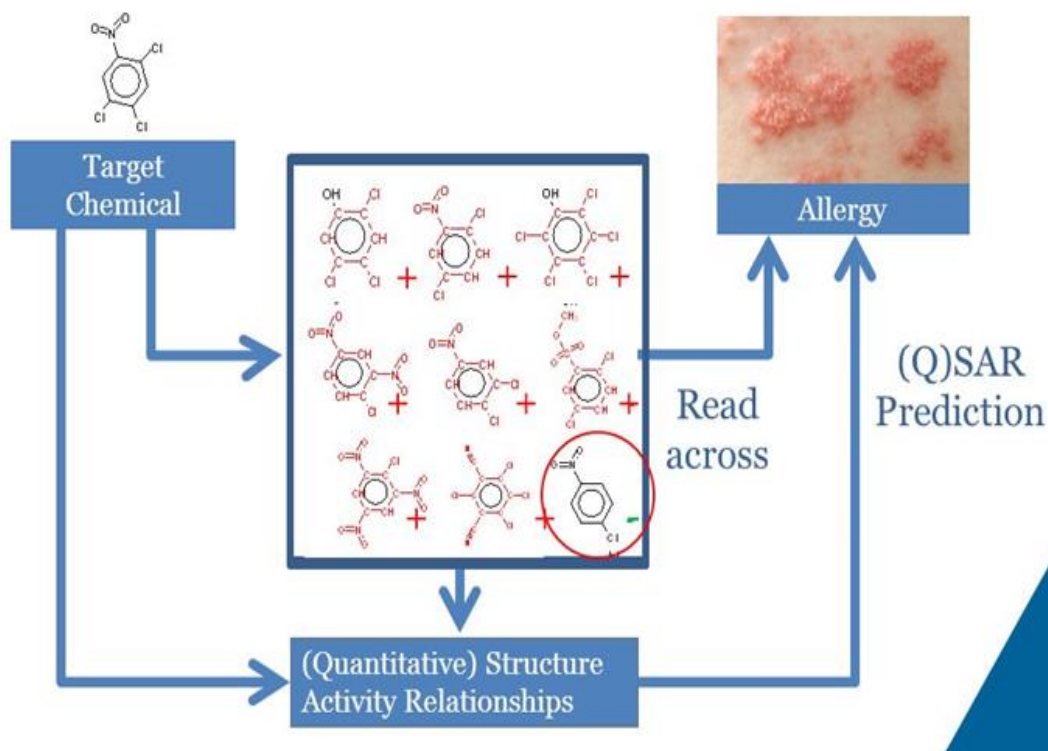
b)

Фиг. 14: а) съотношение чувствителност към специфичност при направен QSAR сравнителен анализ на токсини , б) съотношение чувствителност към специфичност при направен сравнителен анализ с различни QSAR модели

Подходът относно токсичността на дадено химично съединение по отношение на оценката на риска за околната среда при дизайна на химичните съединения, включени в ПРЗ, ВМП и фармацевтичните продукти, предназначени за човешка употреба би бил да се определи "безопасно ниво" на употреба, концентрация при или под, която няма да бъде засегнат нито един организъм, нито определен процент организми в екосистемата. Днес най-обещаващата техника за оценка на токсичността на замърсителите е QSAR. QSAR първоначално са математически модели, свързващи биологичната активност на химикалите с техните структури и са разработени и използвани главно в областта на дизайна на лекарствата. Днес обхватът е разширен, за да се генерират всякакви данни, свързани както с токсичността, биоакмулирането им, съдбата и поведението в околната среда, така и с експозицията на хора и животни на химични съединения и техните метаболити в състава на ВМП и фармацевтичните продукти, също съотношението токсична доза (концентрация) към отговор (ефект), което да улеснява оценката на риска.



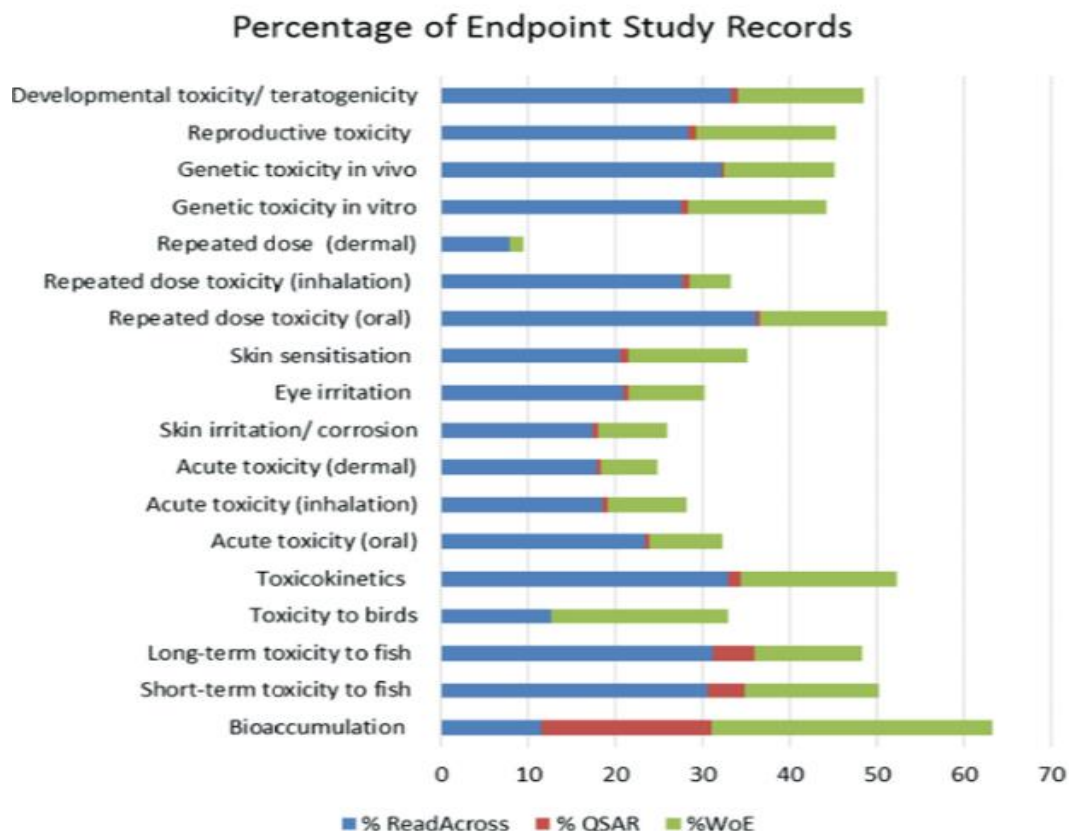
Фиг. 15: Пример за QSAR анализ, целящ прогнозиране на несъвместимост на лекарствени продукти



Фиг. 16: Пример за прогнозиран ефект от приложението на фармацевтичен продукт, предизвикващ кожни алергии

Познаването на генотоксичността и канцерогенния потенциал на химичните съединения е един от ключовите моменти при оценката на риска за човешкото здраве и здравето на животните. Оценката на генотоксичността също така се счита за стъпка от прогнозиране на канцерогенността. Оценката на риска на двете крайни точки е основна цел на националните и международните законодателства за всички видове вещества и стимулира разработването на алтернативни, „нетестими“ методи, които да заместят опитите с животни. Могат различни дескриптори да бъдат използвани при статистическия анализ, прогнозиращи следните ефекти:

- Тератогенен ефект
- Репродуктивна токсичност
- Генотоксичност
- Дермална, инхалационна, кожна, орална хронична токсичност
- Дермална, инхалационна, кожна, орална остра токсичност
- Токсокинетика
- Токсичност при риби, водорасли, гъби и висши организми при дълготрайна експозиция
- Токсичност при риби водорасли, гъби и висши организми при краткотрайна експозиция
- Биоакмулиране на химичните съединения
- Полуразпад до метаболити и време за полуразпад на химичните съединения при различни условия
- Други

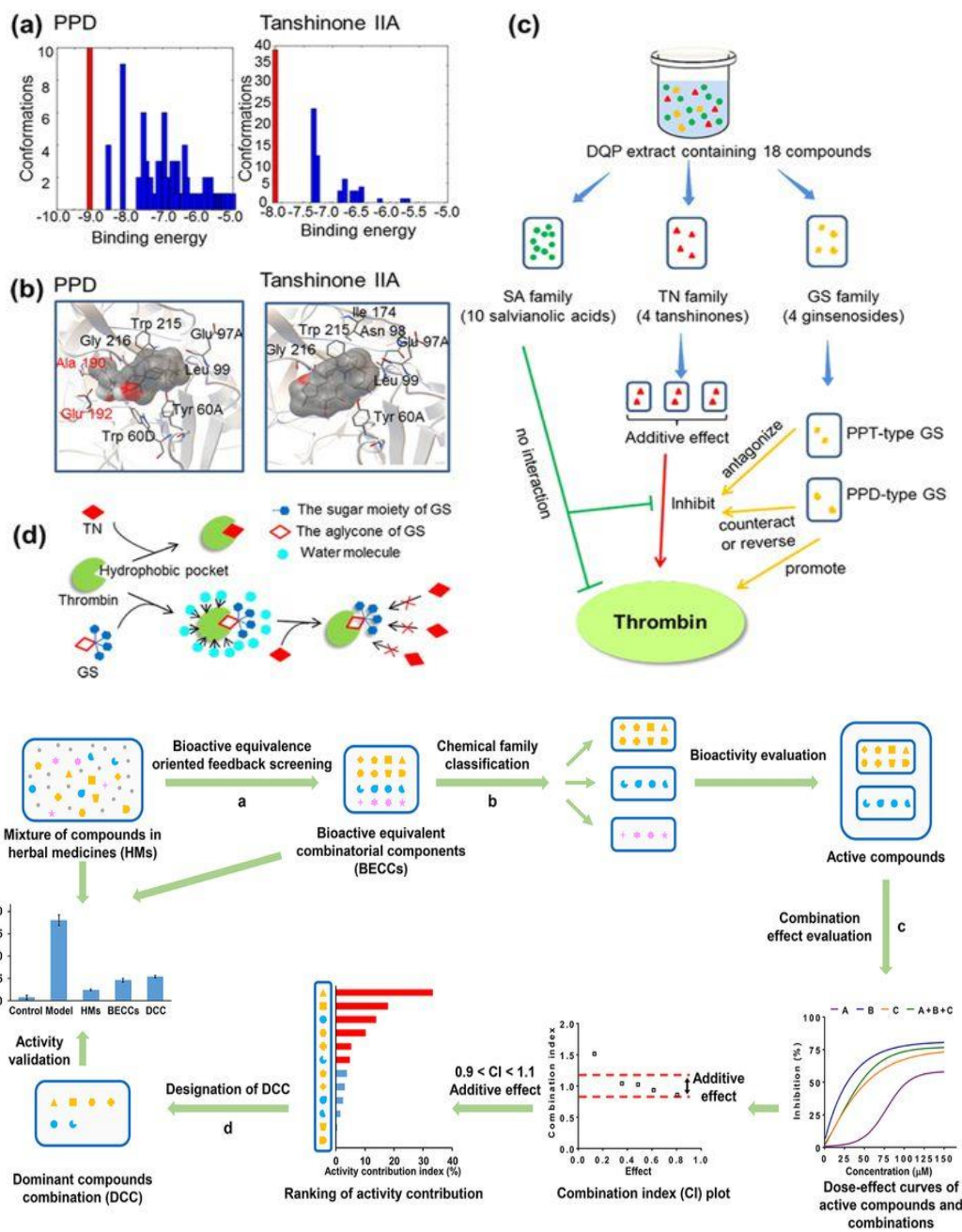


Фиг. 17: Процентно съотношение на прилагането на различните статистически модели спрямо изброените целеви прогнозираны ефекты, важны при оценка на риска от употребата на ВМП и фармацевтични продукти в хуманната медицина

Друго важно направление, в което огромна полза има от прилагането на компютърното моделиране е: комбинираната лекарствена терапия в хуманната медицина. Комбинираната лекарствена терапия е обещаваща стратегия за борба с все по- комплицираните нововъзникващи заболявания поради по-малкото нежелани реакции, по-ниска токсичност и по- добра ефикасност. Въпреки усилената работа в това направление в експерименталната медицина не е възможно да се определят всички ефективни и същевременно възможни лекарствени комбинации предвид и нарастващия брой одобрени лекарства на пазара. Експерименталните методи за идентифициране на ефективни лекарствени комбинации са трудоемки, изискват лабораторни условия и клинична среда и отнемат време, затова все по- често при дизайна на нови лекарства и такива със синергично действие се използва компютърно симулационно моделиране и QSAR анализ на таргетното заболяване, за което е предназначен продукта, метаболитният път на активните вещества и техните метаболити, страничните ефекти на лекарствата и фармакокинетиката.

През последните десетилетия парадигмата "едно-лекарство, една цел" с развитието на съвременната медицина и все по- задълбочените разработки и дизайн на нови и нови лекарства вече не е актуална и се заменя с тенденцията "многокомпонентни лекарства - многоцелеви" за лечението на все по- комплицираните нововъзникващи заболявания, пр. рак, метаболитни нарушения и други. Терапевтичните средства, базирани на парадигмата "многокомпонентни лекарства - многоцелеви", могат да бъдат по-

ефикасни включително и относно все по- нарастващата в световен мащаб лекарствена резистентност чрез използване на лекарствени комбинации.



Фиг. 18: Примери за дизайн на многокомпонентни лекарства – изследване на взаимовръзка доза- ефект

В заключение:

Плюсове и минуси на използването на QSAR моделирането:



++++
++

- Посредством QSAR моделирането може бързо и лесно да се установят свойствата на химичните съединения – смеси от химични съединения, готови фармацевтични продукти, ВМП или ПРЗ или да се установят свойствата на новосинтезирани химични съединения и лекарства.
- Би могло чрез моделиране да се класифицират веществата в определени категории и да не се налага анализ на всяко едно по отделно, което отнема време и е многостъпков процес, а да се екстраполират данни.
- Биха могли да се генерират данни за взаимовръзката доза – ефект на даден продукт.
- Един QSAR анализ с подходящо подбрани дескриптори би могъл да бъде основен „инструмент“ в различните направления на оценката на риска.
- QSAR анализът би могъл да замени в голяма степен опитите с животни и трудоемката лабораторна работа, като можем да заключим, че *in silico* методът е хуманен.
- QSAR анализът е евтин, тъй като отпада в голяма степен необходимостта от скъпо струващи лабораторни тестове и екипировка, както и би могъл да замени от части опитите на терен относно ПРЗ. Това значи по- малко скъпо струващи и времеемки изпитвания и лабораторна апаратура.
- Би могъл чрез симулационни модели да се предвиди разпада на метаболити и остатъците от ВМП, ПРЗ и фармацевтични продукти.
- Би могло да се предвиди дадено химично съединение каква съдба и поведение ще има след дългогодишна употреба както и влиянието му върху здравето на хора/ животни или околна среда.
- Би могло да се прогнозира токсичност на химичните съединения или канцерогенност, мутагенност и дали дадено вещество спада към ендокринните замърсители.
- Намаляване на отпадъците и замърсителите в околната среда.
- Анализирани в реално време на химичните съединения и продуктите за ветеринарна и хуманна употреба и тези за растителна защита, за да се предотврати замърсяването на околната среда и тестовете върху хора и животни.
- Чрез симулационните модели се намалява риска от потенциални аварии в лабораторни условия, неточност от човешка грешка и най- вече заложеният от хилядолетия принцип на действие: „проба- грешка“.

- QSAR/QSPR моделите се прилагат в процесите на вземане на решения във фармацевтичната и химичната индустрия и като резултат се получава: по-голяма ефективност на финансовите разходи, съкращаване на времето за разработка, дизайн и тестване на физикохимичните свойства на изцяло новосъздадени химични съединения.
-
-

- Манипулиране на суровите данни от QSAR анализа и спекулиране с резултатите.
- Необходимост от много високо квалифициран персонал, който да разчита данните, немалък екип от учени в различни направления, за да се направи широкообхватна оценка на риска.
- Софтуерът, необходим за QSAR моделирането е натоварващ хардуера, за целта е необходим не един сървър и компютър със специфични характеристики.
- При неправилно подбрани дескриптори и респективно валидиран модел, резултатите не са надеждни и биха „повели в грешна посока“ оценката на риска на ВМП, ПРЗ и фармацевтичен продукт или при анализ на физикохимичните свойства на активните вещества в състава им.
- Необходима постоянна обмяна и работа с различни бази данни, които се ползват от QSAR моделите, но е необходим и подходящ персонал – биоинформатици, статистици и други специалисти с подходящи познания.
- Фалшиви корелации и взаимовръзки могат да възникнат поради твърде големия обем на биологичните данни.
- Често експериментите, на които разчитат QSAR анализите, нямат добър зададен план за действие в тесния смисъл на експерименталния дизайн. Поради това събраните данни може да са напълни. Следователно, много голяма част от резултатите от QSAR не могат да се използват, за да се предскажат с абсолютна точност например най-вероятните съединения с най-добра биологична активност.
- Известно е, че различни физико-химични параметри са взаимно свързани. Следователно само променливи или техни комбинации, които имат малък коварианс, трябва да се използват в QSAR анализа; подобни съображения се прилагат, когато се търсят корелации за различни групи биологични данни.

Източници:

- Open Source Software and Web Services for Designing Therapeutic Molecules - Deepak Singla^{1,2}, Sandeep Kumar Dhanda¹, Jagat Singh Chauhan¹, Anshu Bhardwaj³, Samir K. Brahmachari^{3,4}, Open Source Drug Discovery Consortium³ and Gajendra P.S. Raghava¹
- Validation of QSAR Models - Strategies and Importance - Ravichandran Veerasamy, Harish Rajak², Abhishek Jain³, Shalini Sivadasan¹, Christopher P. Varghese and Ram Kishore Agrawal
- Reference Guide And User Manual For QSAR TOOLBOX 4.2
- GUIDELINE ON ENVIRONMENTAL IMPACT ASSESSMENT FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS PHASE II, European Medicines Agency, Veterinary Medicines and Inspections
- КОМПЮТЪРНИ МЕТОДИ ЗА МОДЕЛИРАНЕ НА ХИМИЧНИ СТРУКТУРИ, инж. Нина Георгиева Николова
- Read-across and QSARs in the risk assessment of food and feed - Tomas Öberg, Scientific Committee and Advisory Forum Unit, EFSA
- QSAR Моделиране - Аграрен Университет –Пловдив, 2017
- Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) and Pesticides - Ole Christian Hansen, Teknologisk Institut, Pesticides Research No. 94 2004, Bekæmpelsesmiddelforskning fra Miljøstyrelsen
- A Practical view of structure activity relationship (SAR) Analysis in Novartis Shanghai - Sean Xiao, Zhengtian Yu, Symposium on Streamlining Drug Discovery, Optibrium, The British Center, Shanghai
- Positive-Unlabeled Learning for inferring drug interactions based on heterogeneous attributes - Pathima Nusrath Hameed , Karin Verspoor, Snezana Kusljic and Saman Halgamuge
- An ensemble model of QSAR tools for regulatory risk assessment - Prachi Pradeep, Richard J. Povinelli, Shannon White and Stephen J. Merrill
- Review of QSAR Models for Ready Biodegradation - Manuela Pavan and Andrew P. Worth, 2006, EUR 22355 EN
- Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment Part E: Risk Characterisation Version 3.0 May 2016, ECHA Europa
- Guidance on information requirements and chemical safety assessment - Chapter R.6: QSARs and grouping of chemicals, ECHA Europa
- EURL ECVAM Status Report on the Development, Validation and Regulatory Acceptance of Alternative Methods and Approaches (2017) – European Commission
- Валидиране на модели, статистически характеристики, кръстосано валидиране: LOO, LMO, Boot-strapping, Y-scrabbling, разделяне на обучителната извадка – доц. Николай Кочев
- Област на приложимост на модел - доц. Николай Кочев
- Illustrative example with the OECD QSAR Toolbox workflow – ECHA Europa
- A pharmaceutical perspective on QSAR and expert system tools - Edwin J. Matthews, Ph.D., Center for Drug Evaluation and Research, US Food and Drug Administration
- Comparison of Quantitative and Qualitative (Q)SAR Models Created for the Prediction of Ki and IC50 Values of Antitarget Inhibitors - Alexey A. Lagunin, Maria A. Romanova, Anton D. Zadorozhny, Natalia S. Kurilenko, Boris V. Shilov, Pavel V. Pogodin, Sergey M. Ivanov, Dmitry

- A. Filimonov and Vladimir V. Poroikov, Department of Bioinformatics, Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia
- Comet assay in reconstructed 3D human epidermal skin models—investigation of intra- and inter-laboratory reproducibility with coded chemicals - Astrid A. Reus, Kerstin Reisinger, Thomas R. Downs, Gregory J. Carr, Andreas Zeller, Raffaella Corvi, Cyrille A.M. Krul and Stefan Pfuhler
 - Prediction of Effective Drug Combinations by an Improved Naïve Bayesian Algorithm - Li-Yue Bai , Hao Dai , Qin Xu , Muhammad Junaid , Shao-Liang Peng, Xiaolei Zhu, Yi Xiong, ID and Dong-Qing Wei
 - Critical assessment of QSAR models to predict environmental toxicity against *T. pyriformis*: Applicability domain and overfitting by variable selection - I.V. Tetko, I. Sushko, A.K. Pandey, H. Zhu, A. Tropsha, E. Papa, T. Öberg, R. Todeschini, D. Fourches, A. Varnek, Helmholtz Zentrum München (Germany), University of North Carolina (USA), University of Insubria (Italy), University of Kalmar (Sweden), University of Milano-Bicocca (Italy) and Louis Pasteur University (France)
 - Agricultural Substances Databases, Agriculture & Environment Research Unit, The University of Hertfordshire
 - <https://echa.europa.eu/bg/about-us/the-way-we-work/plans-and-reports>
 - <https://echa.europa.eu/support/registration/how-to-avoid-unnecessary-testing-on-animals>
 - <https://echa.europa.eu/chemicals-in-our-life/animal-testing-under-reach>
 - <https://echa.europa.eu/practical-guides>
 - <https://echa.europa.eu/support/oecd-eu-test-guidelines>
 - QSAR modeling on Quinazolinonyl Pyrazolines and Quinazolinoyl Isoxazolines as Anticonvulsant Agents - Maninder Minu, Deepti Singh
 - 2D-QSAR model development and analysis on variant groups of anti -tuberculosis drugs - Neeraja Dwivedi1, Bhartendu Nath Mishra, Vishwa Mohan Katoch
 - From Medicinal Chemistry to Human Health: Current Approaches to Drug Discovery for Cancer and Neglected Tropical Diseases - LEONARDO G. FERREIRA, GLAUCIUS OLIVA AND ADRIANO D. ANDRICOPULO
 - Regulatory assessment of chemical mixtures: Requirements, current approaches and future perspectives - Aude Kienzler, Stephanie K. Bopp*, Sander van der Linden, Elisabet Berggren, Andrew Worth
 - Is a combination of assays really needed for non-animal prediction of skin sensitization potential? Performance of the GARD™ (Genomic Allergen Rapid Detection) assay in comparison with OECD guideline assays alone and in combination - David W. Roberts
 - 3D-e-Chem: Structural Cheminformatics Workflows for Computer-Aided Drug Discovery - Albert J. Kooistra, Merton Vass, Ross McGuire, Rob Leurs, Iwan J. P. de Esch, Gert Vriend, Stefan Verhoeven, Chris de Graaf
 - Engineering next generation diagnostics through synthetic biology - Pr Pascal Rathelot, Dr Franck Molina, Pr Eric Renard
 - Validation of QSAR Models - Strategies and Importance - Ravichandran Veerasamy, Harish Rajak, Abhishek Jain, Shalini Sivadasan, Christopher P. Varghese and Ram Kishore Agrawal
 - Environmental risk assessment for veterinary medicinal products Part 1. Non-immunological drug substances - National Institute of Public Health and the Environment, Expert Centre for Substances

- Recent advances in QSAR-based identification and design of anti-tubercular agents - Nidhi1 & Mohammad Imran Siddiqi
- (Q)SAR Methods for Predicting Genotoxicity and Carcinogenicity: Scientific Rationale and Regulatory Frameworks - Cecilia Bossa, Romualdo Benigni, Olga Tcheremenskaia, Chiara Laura Battistelli
- Considerations of nano-QSAR/QSPR models for nanopesticide risk assessment within the European legislative framework - Villaverde JJ, Sevilla-Morán B, López-Goti C, Alonso-Prados JL, Sandín-España
- [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2014\)4&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)4&doclanguage=en)
- <https://echa.europa.eu/bg/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>
- https://experiments.springernature.com/articles/10.1007/978-1-4939-3609-0_12
- Prediction of synergistic drug combinations - Zohar B., Weinstein AndreasBender, MuratCokol
- QSAR models of human data can enrich or replace LLNA testing for human skin sensitization - Vinicius M. Alves,ab Stephen J. Capuzzi,a Eugene N. Muratov,ac Rodolpho C. Braga,b Thomas E. Thornton,a Denis Fourches,d Judy Strickland,e Nicole Kleinstreuer,f Carolina H. Andradeb and Alexander Tropsha
- In silico assessment of adverse drug reactions and associated mechanisms - Sergey M.Ivanov, Alexey A.Lagunin, Vladimir V.Poroikov
- Skin sensitisation - The LuSens and U-SENS™ methods reviewed by EURL ECVAM
- https://www.bfr.bund.de/en/use_of_qsar_in_chemical_assessment-10429.html
- <http://www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/37849783.pdf> - OECD PRINCIPLES FOR THE VALIDATION, FOR REGULATORY PURPOSES, OF (QUANTITATIVE) STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP MODELS
- https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/When_to_Use_QSAR_for_Chemical_Substance_Registration_and_Common_QSAR_Models.html
- REACH and dossier evaluation - Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) and evaluation of pesticides and biocide dossiers.

Изготвил:

Красимира Захаријева, главен експерт в дирекция ОРХВ към ЦОРХВ

Дата: 14/12/2018 г.

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<http://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg
тел. 02/4273056

Ф-НК-7.6-5/0

