




Orientierendes Screening nach endokrin wirksamen Stoffen

Dr. Frauke Stock

Umweltbundesamt (UBA)

Ziel des Vortrags:

Überblick geben:

-  1 Wovon reden wir und welche Verpflichtung besteht
-  2 Wie erkenne ich einen endokrin wirksamen Stoff
-  3 Welche Informationsquellen kann ich nutzen und wie

Endokrine Disruptoren:

- Eigenschaften:
 - Wirkweise: Wirkung auf das hormonelle System
 - Auswirkung: Wirkung auf Organismen in der Umwelt
- Bedeutung
 - Aufgrund der Wirkweise Langzeitwirkung zu erwarten
 - Aufgrund der Wirkweise Wirkung auf verschiedene Organismengruppen zu erwarten
 - Aufgrund der Wirkweise im Einzelfall besonders besorgniserregend

Aufgabe des Registranten:

- Ermittlung der schädlichen Wirkung auf die Umwelt anhand **aller verfügbaren Informationen** und
- **Sicherstellung der sicheren Verwendung**

Leitfragen:

- Gibt es Hinweise über spezifische Eigenschaften die detailliertere Bewertung notwendig machen?
(Berücksichtigung aller verfügbaren Informationen (Anhang 1 REACH VO))
- Sind weitere Test notwendig um die schädliche Wirkung ausreichend sicher abschätzen zu können?
(Prüfung der Langzeittoxizität wenn die Notwendigkeit der Prüfung weiterer Wirkungen erkennbar wird (Anhang VIII – IX))
- Ist meine Chemikalie möglicherweise besonders besorgniserregend?

Leitfäden:

- OECD conceptual framework und OECD Guidance Document on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption
<http://www.oecd.org/dataoecd/8/18/48090754.doc>
-> Hilfestellung welche in vivo Tests welche Aussage ermöglichen
- REACH Guidance document R 7b Anhang 7.8-5
-> Hilfestellung welche Informationen wie zur Identifizierung als besonders besorgniserregenden Stoff genutzt werden

OECD CF* Level	Art der Information	Schlussfolgerung
1 – QSAR Daten	Rezeptorbindung/Aktivierung möglich?	Möglicherweise in vitro endokriner Wirkmechanismus
2- in vitro Daten	Rezeptorbindung/Aktivierung	in vitro endokriner Wirkmechanismus
3 – in vivo Screening Daten	in vivo Aktivierung	In vivo endokrine Wirkweise Potentieller Endokriner Disruptor
4 + 5 in vivo Effektdaten	In vivo adverse Effekte	Endokriner Disruptor / Potentieller Endokriner Disruptor

* CF – OECD conceptual framework

- OECD Draft Guidance Document

Test guideline or other test method	Endpoints for estrogen-mediated activity		Endpoints for androgen-mediated activity		Endpoint s for thyroid-related activity	Endpoint s for steroidogenesis-related activity	Endpoint s potentially sensitive to, but not diagnostic of, EATS modalities
Fish sexual development test (FSDT) (draft TG 234)	Female-biased phenotypic sex ratio*	Male-biased phenotypic sex ratio*	Male-biased phenotypic sex ratio*	Induction of intersex fish VTG induction in females Female-biased phenotypic sex ratio*	Nil	Male-biased phenotypic sex ratio* VTG depression in males and females	Body length Body weight Morphological abnormalities Certain histopathologic findings not related to endocrine activity
	VTG induction in males and females	Increase in sexually undifferentiated fish.	VTG depression in males and females				
	Specific gonad histopathologic findings	VTG depression in females Specific gonad histopathologic findings (optional) as listed in OECD (2010a)	Specific gonad histopathologic findings (optional) as listed in OECD (2010a)	Specific gonad histopathologic findings (optional) as listed in OECD (2010a)			



- QSAR Abschätzungen zur endokrinen Wirkweise
- In Vitro Datenbanken
- Datenbank der EU Kommission
- Sonstige Datenbanken

OECD QSAR Toolbox

Ziel: Bereitstellung von Informationen um ähnliche Stoffe für read-across oder Kategorienbildung zu finden

Stoffeingabe: Über CAS Nummer / Smiles Code / Struktur

Ergebnis in Bezug auf Endokrine Eigenschaften: Prüfung von Strukturalarmen (Profiler) für Östrogenrezeptorbindung

<http://www.oecd.org/chemicalsafety/assessmentofchemicals/theoecdqsartoolbox.htm>

QSAR Toolbox 2.2.1.1120 [Document_1]

Input Profiling Endpoint Category Definition Data Gap Filling Report

Profiling Profiling Schemes

Apply New View Delete

Profiling methods

Select All Unselect All Invert About

- ☐ Database Affiliation
- ☐ Inventory Affiliation
- ☐ OECD HPV Chemical Categories
- ☐ Substance Type
- ☐ US-EPA New Chemical Categories

General Mechanistic

- ☐ DNA binding by OECD
- ☒ Estrogen Receptor Binding
- ☐ Protein binding by OASIS
- ☐ Protein binding by OECD
- ☐ Protein binding by OECD
- ☐ Super fragments
- ☐ Toxic hazard classification by Cramer
- ☐ Toxic hazard classification by Cramer

Endpoint Specific

- ☐ Acute aquatic toxicity classification by OECD
- ☐ Acute aquatic toxicity MOA by OASIS
- ☐ Aquatic toxicity classification by ECOSAR
- ☐ Bioaccumulation - metabolism alerts
- ☐ Bioaccumulation - metabolism half-life
- ☐ Biodegradation fragments (BioWIN Model)
- ☐ Eye irritation/corrosion Exclusion rule
- ☐ Eye irritation/corrosion Inclusion rule
- ☐ Micronucleus alerts by Benigni/Bossa
- ☐ Mutagenicity/Carcinogenicity alerts by Benigni/Bossa

Metabolism

Select All Unselect All Invert About

Documented

- ☐ Observed Liver metabolism
- ☐ Observed Microbial metabolism

Simulated

- ☐ Dissociation simulation
- ☐ Liver metabolism simulator
- ☐ Microbial metabolism simulator
- ☐ Skin metabolism simulator

Filter endpoint tree...

Structure

Substance Identity

Physical Chemical Properties

Environmental Fate and Transport

Ecotoxicological Information

Human Health Hazards

Profile

Database Affiliation

Inventory Affiliation

OECD HPV Chemical Categories

Substance Type

Estrogen Receptor Binding

Toxic hazard classification by Cramer (with extension)

Acute aquatic toxicity classification by OECD

Acute aquatic toxicity MOA by OASIS

Aquatic toxicity classification by ECOSAR

1 (Target)

Strong binder, OH group

QSAR TOOLBOX 2.2.1.1120 [Document_1]

Profiling methods

- ☐ Database Affiliation
- ☐ Inventory Affiliation
- ☐ OECD HPV Chemical Categories
- ☐ Substance Type
- ☐ US-EPA New Chemical Categories
- General Mechanistic**
 - ☐ Protein binding by OASIS
 - ☐ DNA binding by OECD
 - ☒ Estrogen Receptor Binding
 - ☐ Protein binding by OASIS
 - ☐ Protein binding by OECD
 - ☐ Protein binding potency
 - ☐ Superfragments
 - ☐ Toxic hazard classification by Cramer
 - ☐ Toxic hazard classification by Cramer
- Endpoint Specific**
 - ☐ Acute aquatic toxicity classification by Cramer
 - ☐ Acute aquatic toxicity MOA by OASIS
 - ☐ Aquatic toxicity classification by ECOSAR
 - ☐ Bioaccumulation – metabolism alerts
 - ☐ Bioaccumulation – metabolism half-life
 - ☐ Biodegradation fragments (BioWIN)
 - ☐ Eye irritation/corrosion Exclusion rule
 - ☐ Eye irritation/corrosion Inclusion rule
 - ☐ Micronucleus alerts by Benigni/Bossa
 - ☐ Mutagenicity/Carcinogenicity alerts by Benigni/Bossa

Metabolism

- Documented**
 - ☐ Observed Liver metabolism
 - ☐ Observed Microbial metabolism
- Simulated**
 - ☐ Dissociation simulation
 - ☐ Liver metabolism simulator
 - ☐ Microbial metabolism simulator
 - ☐ Skin metabolism simulator

About

Name
Estrogen Receptor Binding

Short description

Estrogen receptor (ER) binding is a molecular initiating event much like protein binding. It is an endpoint where several comprehensive databases exist, which has lead to the development of several approaches for using (Q)SARs to predict ER binding and possible subsequent endocrine disruption.

The incorporated Toolbox ER binding profiling scheme is based on structural and parametric rules extracted from literature sources and supported by experimental data. The ER-binding profiler classifies chemicals as non binders or binders depending on molecular weight (MW) and structural characteristics of the chemicals:

1. Very strong binders: Chemicals with MW between 200 and 500 Da and two rings with a hydroxyl group connected to each of them.
2. Strong binders: Chemicals with at least one 5-or 6-members carbon ring with an unhindered hydroxyl or amino group and MW between 200 and 500 Da;
3. Moderate binders: Chemicals with at least one 5-or 6-members carbon ring with an unhindered hydroxyl or amino group and MW between 170 and 200 Da;
4. Weak binders: Chemicals with at least one 5-or 6-members carbon ring with an unhindered hydroxyl or amino group and MW less than 170 Da;

If the target chemical does not meet some of the structural and parametric requirements listed above it is classified as Non binder:

- Non binder with impaired hydroxyl or amino group;
- Non binder, MW more than 500 Da;
- Non binders without hydroxyl or amino group;
- Non-binder, non-cyclic.

Disclaimer

Close

QSAR Toolbox 2.2.1.1120 [Document_1]

QSAR TOOLBOX

Input Profiling Endpoint Category Definition Data Gap Filling Report

Profiling Profiling Schemes

Apply New View Delete

The OECD QSAR Toolbox for Grouping Chemicals into Categories
Developed by LMC, Bulgaria

Filter endpoint tree... 1 (Target)

Profiling methods

Select All Unselect All Invert About

Database Affiliation
Inventory Affiliation
OECD HPV Chemical Categories
Substance Type
US-EPA New Chemical Categories

General Mechanistic

Estrogen Receptor Binding

Endpoint Specific

Acute aquatic toxicity classification by Verhaar
Acute aquatic toxicity MOA by OASIS
Aquatic toxicity classification by ECOSAR
Bioaccumulation – metabolism alerts
Bioaccumulation – metabolism half-life
Biodegradation fragments (BioWIN Model)
Eye irritation/corrosion Exclusion rule
Eye irritation/corrosion Inclusion rule
Micronucleus alerts by Benigni/Bossa
Mutagenicity/Carcinogenicity alerts by Benigni/Bossa

Metabolism

Select All Unselect All Invert About

Documented

Observed Liver metabolism
Observed Microbial metabolism

Simulated

Dissociation simulation
Liver metabolism simulator
Microbial metabolism simulator
Skin metabolism simulator

Estrogen Receptor Binding

Strong binder, OH group

Toxic hazard classification by Cramer (with extension)

Acute aquatic toxicity classification by Verhaar

Acute aquatic toxicity MOA by OASIS

Aquatic toxicity classification by ECOSAR

Sehr grober Strukturalarm:

- Sehr starke Binder: MW 200 – 500 Da und zwei Kohlenstoffringe mit jeweils einer OH-Gruppe
- Starke Binder: MW 200 – 500 Da und ein 5-6 C-Atom Ring mit einer ungehinderten OH oder Aminogruppe

- > Für erstes Screening geeignet aber vermutlich viele falsch positive Stoffe
- > Informationen nur für einen Wirkmechanismus (Östrogenrezeptorbindung)

Weitere QSAR Quellen:

- Programm ChemProp: Entscheidungsbaum für östrogene Wirkung, Strukturalarme für androgene Wirkung
-> frei verfügbar aber Lizenzvereinbarung notwendig
<http://www.ufz.de/index.php?en=6738>
- Diverse Publikationen. Zusammenfassung auf der Internetseite des Joint Research Centers der Europäischen Kommission
http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/food-cons-prod/endocrine_disruptors/eas_database/info-sources-databases-endocrine-active-substances

NCTRER: National Center for Toxicological Research Östrogen Receptor Binding Database

Inhalt:

- in vitro Daten für 232 Stoffe für Östrogen- und Androgenrezeptor (Ratte)

Ergebnis:

- Relative Bindungsstärke im Vergleich zu Positivkontrollen
- Einteilung in “Aktivitätskategorien” anhand der relativen Bindungsstärke

http://www.epa.gov/ncct/dsstox/sdf_nctrer.html

-> NCTRER_v4b_232_15Feb2008_nostructures.xls

TestSubstance_ ChemicalName	Test Substance_ CASRN	StudyType	Endpoint	Species	ER_RB A	LOG_ ER_R BA	ActivityScore_ NCTRER	Activity Outcome_ NCTRER	ActivityCategory_ ER_RBA	ActivityCategory_Ratio nale_ ChemClass_ERB
4-t-octylphenol	140-66-9	Receptor Binding	Estrogen Receptor Relative Binding Affinity	rat	0.015	-1.82	50	active	active medium	Alkyl phenols are very weak binders, log RBA correlates with log P for para substituted phenols; RBA increases with chain length to maximum value of 0.031 in 4-nonylphenol.

Einordnung der Ergebnisse:

- > Hinweis auf in vitro Rezeptorbindung
- > Bindungsstärke nur wenig aussagekräftig und schlecht vergleichbar
- > nur Hinweise auf östrogene / androgene Wirkweise

Datenbank der EU Kommission

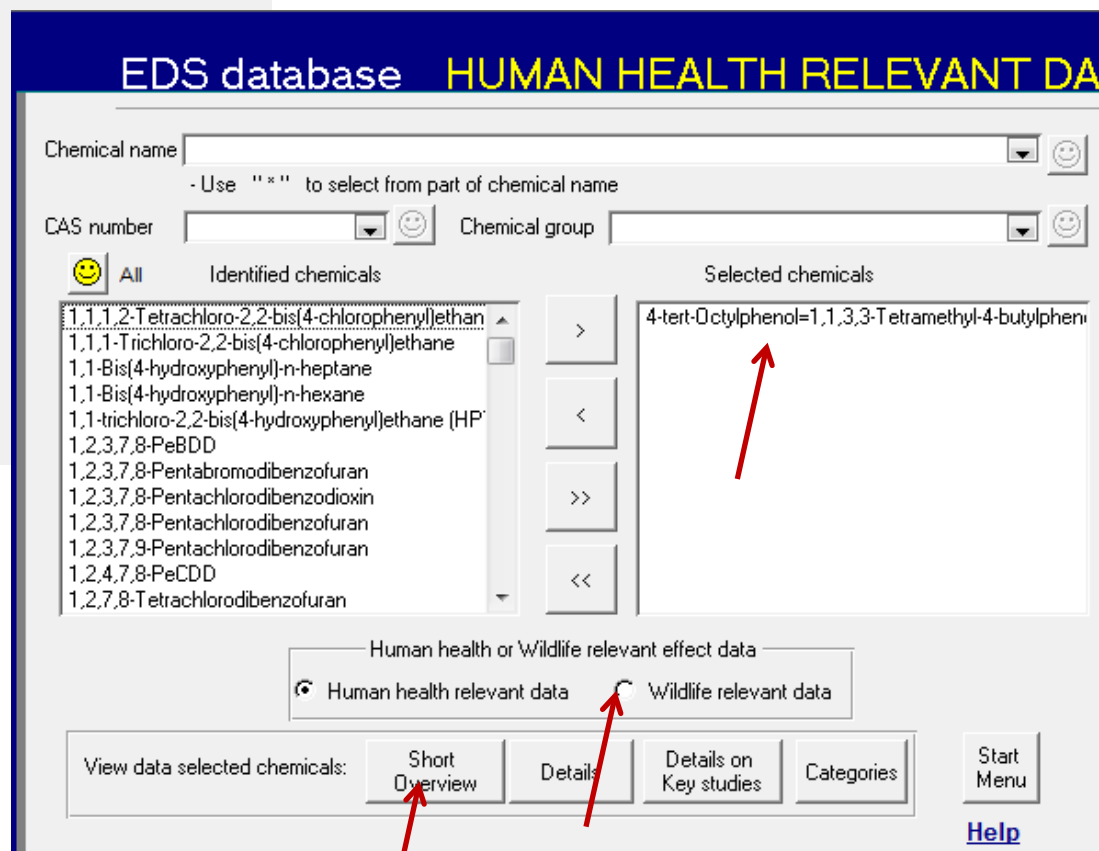
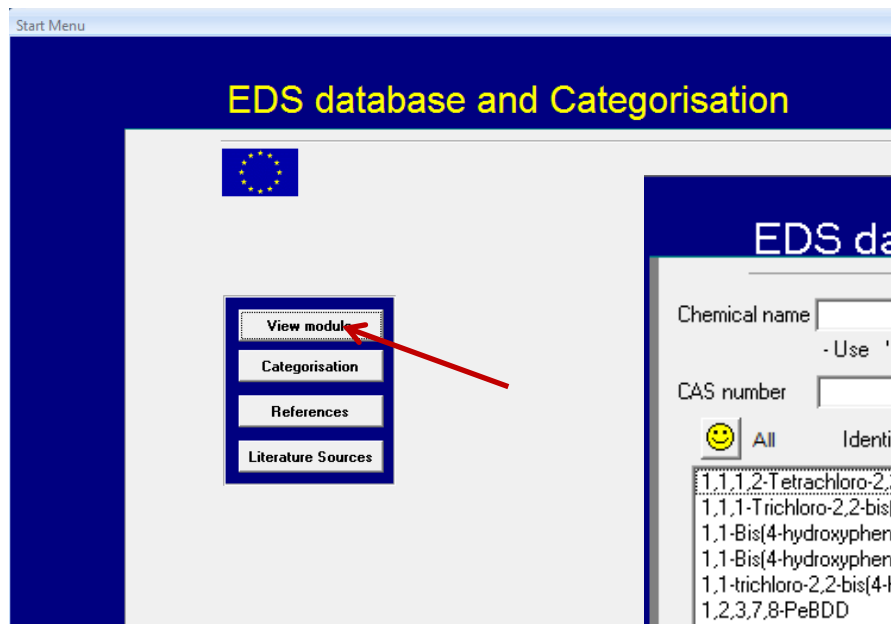
http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/food-cons-prod/endocrine_disrupters/eas_database

Inhalt:

- In vitro und in vivo Tests in Bezug auf Endokrine Wirkweise für 428 Stoffe

Ergebnis:

- Kategorisierung
 - **Category 1** - evidence of endocrine disrupting activity in at least one species using intact animals;
 - **Category 2** - at least some in vitro evidence of biological activity related to endocrine disruption;
 - **Category 3** - no evidence of endocrine disrupting activity or no data available
- > Einordnung liefert gute Hinweise auf in vivo endokrine Aktivität. Jedoch häufig nicht ausreichend um explizit zu schlussfolgern dass ein Stoff ein Endokriner Disruptor ist.



EDS Database: Categorisation

NO	CASNR	NAME	HH	WL	Overall	Reference decision	Short Overview:
137	140-66-8	4-tert-Octylphenol=1,1,3,3-Tetramethyl-4-butylphenol	CAT1	CAT1	CAT1	EM 1999	HH WL

1. Select Ref decision 2. Select Category 3. Select HH or WL VIEW DATA Help

Datensatz: 1 von 1 Ungefiltert Suchen

Formularansicht

SHORT OVERVIEW: WILDLIFE EFFECTS DATA

Key	Chno	Name	Species/recept	Effect	Criterion	Dose/conc	Unit	Type	Test type	In file	RefID
<input checked="" type="checkbox"/>	1POe038	4-tert-Octylphenol=1,1,3,3-	Trout; FHVSA cells	stimulation of proliferation				+e	in vitro	yes	Job93
<input type="checkbox"/>	1CGe176	4-tert-Octylphenol=1,1,3,3-	Guppy	altered sperm count, body colouration, gonadosomatic index	NOEC	50-300	g/l	-e	in vivo		Baa99
<input type="checkbox"/>	1POe040	4-tert-Octylphenol=1,1,3,3-	Trout; FHVSA cells	stimulation of proliferation				+e	in vitro	yes	Whi94
<input checked="" type="checkbox"/>	1POwe100	4-tert-Octylphenol=1,1,3,3-	Oncorhynchus mykiss	Induction of Vitellogenin synthesis	EC	38	µg/l	+e	in vivo	yes	Job96

Change selection Details Categorisation Preprint overview ED related tests ED in vivo tests ED in vitro tests Systemic tox. tests Key studies All tests Help

Datensatz: 1 von 4 Gefiltert Suchen

Formularansicht

-> Einordnung liefert gute Hinweise auf in vivo endokrine Aktivität. Jedoch häufig nicht ausreichend um explizit zu schlussfolgern dass ein Stoff ein Endokriner Disruptor ist.

ChemSEC SIN Datenbank: <http://www.chemsec.org/list/sin-database>

-> NGO Datenbank mit 22 Stoffen die aufgrund ausführlicher Recherche als Endokrine Disruptoren angesehen werden. Inkl. Literaturliste

The Endocrine Disruption Exchange TEDX Liste:

<http://www.endocrinedisruption.com/endocrine.TEDXList.overview.php>

-> NGO Liste mit 870 Stoffen zu denen mindestens eine Publikation die Hinweise auf eine endokrine Wirkung liefert (oft nur in vitro / in vivo Screening Daten). Inkl. Literaturliste



- QSAR und in vitro Ergebnisse geben erste Hinweise auf mögliche endokrine Wirkweise
-> QSAR Screening Modul und in vitro Datenbank frei verfügbar
- Spezielle Testmethoden ermöglichen für einige wenige endokrine Wirkweisen eine Abschätzung ob eine Endokrine Wirkweise vorliegt und der Stoff ein Endokriner Disruptor ist
-> Zusammenstellung verfügbarer Literatur in verschiedenen Datenbanken verfügbar
- Hinweisen auf Endokrine Wirkung sollten nachgegangen werden
-> ggf. Testauswahl überdenken

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit

Fragen?

Frauke Stock
Umweltbundesamt
Fachgebiet IV 2.3 Chemikalien
Frauke.stock@uba.de