

# Toxicologia in silico: uma nova abordagem para análise do risco químico

Carlos E. M. Santos

Graduando em Farmácia, Faculdade de Farmácia do Centro Universitário da Bahia. Bolsista do ProUni desde 2007. Estagiário de toxicologia da Intertox. São Paulo – SP. E-mail: [carlos@intertox.com.br](mailto:carlos@intertox.com.br)

## Resumo

As ferramentas computacionais e ensaios automatizados já têm reconhecida aplicação no campo do desenvolvimento de novos fármacos, como no caso da aplicação de QSAR (Quantitative Structure-activity Relationship) e HTS (High-throughput Screening). A aplicação de tais ferramentas e a criação de softwares com dados REA (Relação Estrutura-atividade), modelos matemáticos e QSAR, no contexto da avaliação da toxicidade tornou-se uma importante faceta da Toxicologia contemporânea, rumo à racionalização de testes com animais e abordagens custo-efetivas. Estabeleceu-se uma nova visão de agências reguladoras quanto aos testes de toxicidade, frente ao desafio de acompanhar o célere ritmo da indústria química, tendo como objetivo a utilização química segura e o risco toxicológico mínimo. O desenvolvimento de metodologias “*In silico*” de avaliação da toxicidade constitui um novo avanço da Toxicologia, com abordagens preditivas, que apontam o potencial de toxicidade de substâncias através de ferramentas computacionais, em conformidade com fundamentação científica e validação metodológica. Contudo, ao contrário do que pode ser

interpretado numa visão leiga imediatista, essas novas formas de abordagem e técnicas em Toxicologia, extremamente válidas, bem vindas e definitivas no atual contexto do risco químico, e não simplificam ou facilitam o raciocínio toxicológico, mas sim exigem cada vez mais o conhecimento e o domínio do conhecimento sobre REA, QSAR, dose-efeito e dose-resposta e de toda a fenomenologia da intoxicação. Elas são um aprofundamento sistematizado do conhecimento toxicológico, do qual não podem produzir, ou seja, são muito mais um produto da Toxicologia do que da Computação.

**Palavras-chave:** Toxicologia computacional. Toxicologia *in silico*. Avaliação da toxicidade. Toxicologia preditiva.

### **Abstract**

The computational tools and automated tests have already notable application in the field of drug development, such as the application of QSAR (Quantitative Structure-activity Relationship) and HTS (High-throughput screening). The application of such tools and software creation with SAR data (structure-activity relationship), mathematical models and QSAR in the context of toxicity assessment has become an important facet of contemporary Toxicology, towards the rationalization of animal experiments and approaches cost-effective. It established a new vision of the regulatory agencies regarding the toxicity tests, face the challenge of monitoring the rapid pace of the chemical industry, aiming to use chemical with toxicological risk minimum. The development of *in silico* methodologies of evaluation of toxicity of the is a further advancement of toxicology, with predictive approaches, which indicate the potential toxicity of

substances by means of computational tools, in accordance with scientific foundation and methodologic validation. However, unlike what can be interpreted in a secular view of the immediate, these new approaches and techniques in Toxicology, highly valuable, welcomed and definitive in the current context of chemical risk, and not simplify or facilitate the toxicological reasoning, but rather require increasing knowledge and domain of knowledge about REA, QSAR, dose-effect and dose-response and the entire phenomenology of intoxication. They are a systematic deepening of toxicological knowledge, which can not produce, i.e. are relatively very much a product of Toxicology than Computing.

**Keywords:** toxicity assessment, computational toxicology, *in silico* toxicology predictive toxicology.

## INTRODUÇÃO

A (eco)toxicidade de substâncias químicas é uma atual preocupação mundial. Muitas substâncias não foram avaliadas quanto à toxicidade, e os resultados das avaliações anteriormente feitas, podem não ser conclusivos, exigindo uma constante atualização (e gestão) da informação toxicológica. As informações de avaliação da toxicidade *in vitro* e *in vivo* e estudos epidemiológicos foram os principais pilares para o estabelecimento de limites considerados seguros e ações regulatórias. Devido à larga produção química, em ritmo célere, frente ao tempo demandado e aos custos das avaliações toxicológicas tradicionais, entre outras razões, ocorreu um evidente desequilíbrio entre a produção química e as avaliações toxicológicas, com avaliação de apenas uma pequena fração das

substâncias disponíveis no mercado, resultando numa utilização química com potenciais riscos ainda desconhecidos e descontrolados (COLLINS et al., 2008; USEPA, 2003 p. 3).

Dentre outros fatores, a questão dos custos das avaliações tradicionais da toxicidade é mais uma dificuldade enfrentada na questão das políticas de segurança química, demasiadamente, nos países em desenvolvimento. A *OMS (Organização Mundial de Saúde)* tem se preocupado com a epidemiologia dos incidentes químicos, especialmente em países subdesenvolvidos, já que há um aumento da utilização química, com atraso nas políticas de segurança e manejo de incidentes químicos. Por outro lado, países desenvolvidos têm melhorado a habilidade de gestão de incidentes e das políticas de segurança, o que tem reduzido o grau de severidade dos incidentes químicos (WHO, 2009).

Segundo dados do *CAS (Chemicals Abstract Service)* (2010), existem atualmente aproximadamente 57 milhões de substâncias (inorgânicas e orgânicas, incluindo proteínas), sendo que cerca de 282 mil são substâncias reguladas/inventariadas. Segundo a mesma fonte mais de 44 milhões de produtos químicos estão atualmente disponíveis, dos quais conta-se cerca de 11,75 milhões de números de registro único no CAS.

A preocupação quanto ao potencial de toxicidade e ecotoxicidade de produtos químicos fez com que muitos países e agências regulamentadoras definissem políticas de segurança e ações regulatórias, exigindo o processo de avaliação toxicológica. Como exemplo, o *REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals)*, uma recente regulamentação que vem sendo gradativamente implementada pela União Européia, para companhias que produzem/fornecem produtos químicos (substâncias puras e/ ou misturas) ou artigos que liberem substâncias. Outras regulações são bem particulares de cada

país, tendo-se em comum, a exigência de informações sobre o perigo de substâncias e produtos químicos.

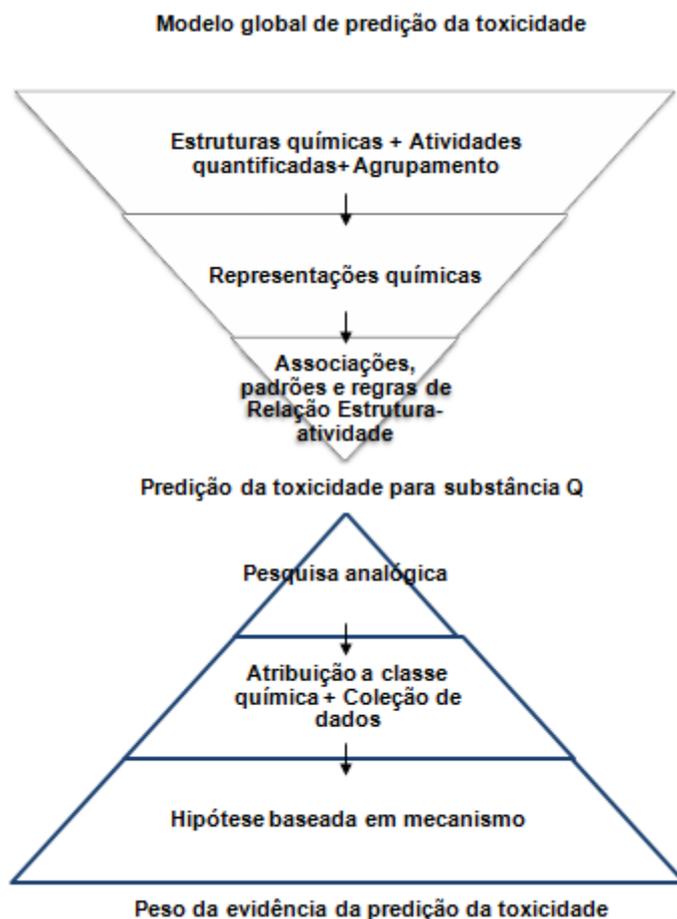
A *ECHA* (*European Chemicals Agency*) (2009), divulgou e questionou resultados de alguns estudos relacionados a estimativas de custos e da quantidade de animais sacrificados, como consequência da implementação do *REACH*. Algumas estimativas sugeriram que os custos seriam de 9,5 bilhões de euros, e que envolveria 54 milhões de animais vertebrados em testes toxicológicos. Para a *ECHA*, estes números superestimaram a real situação, devido a interpretações incorretas; desconsideração da possibilidade de adaptação de informações e utilização de métodos alternativos; e má interpretação dos protocolos para realização de testes. Segundo a agência as estimativas mais precisas seriam de custos em torno de 1,3 bilhões de euros, e utilização de 9 milhões de animais de laboratório, sendo um de seus desafios a minimização de testes com animais (estes, como últimos recursos) e utilização de métodos alternativos para a avaliação de perigo de substâncias.

Os métodos tradicionais de avaliação da toxicidade - apesar da especial aplicação na Toxicologia -, devido ao longo tempo demandado, considerável utilização animal e altos custos, versus, a grande produção química, levaram à busca de métodos alternativos de avaliação da toxicidade. Em 2005, como consequência da necessidade de se avaliar um grande número de novas substâncias e outras já existentes (sem prévia avaliação), de maneira custo-efetiva, a *USEPA* (*United States Environmental Protection Agency*) e o *NTP* (*National Toxicology Program*) sugeriram uma nova visão, com novas estratégias para avaliação e testes de toxicidade com fins regulatórios. Essa nova visão, já previamente planejada em 2003, incorporava avanços em Biologia Molecular, Toxicologia Molecular, Ciências Computacionais (inclusive a Química Computacional) e Tecnologia da Informação, dando origem a um nova área da

Toxicologia: a Toxicologia Computacional. As ferramentas da Toxicologia Computacional são hoje desenvolvidas e recomendadas por organizações como *USEPA - U. S. Environmental Protection Agency, Comunidade Européia, OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development*, entre outras (USEPA, 2010; COLLINS et al., 2008).

A Toxicologia Computacional pode ser definida como a área da Toxicologia, na qual aplica-se modelos computacionais e matemáticos para a predição de efeitos adversos, e, para o melhor entendimento do(s) mecanismo(s) através do(s) qual(is) uma determinada substância provoca o dano. Nesta grande área do conhecimento, destaca-se a produção de ferramentas computacionais de avaliação preditiva da toxicidade, a partir da integração de avanços em informática e bioinformática, estatística, química computacional, biologia e toxicologia (IUPAC, 2007; USEPA, 2003, 2009, 2010).

Dentro de projetos da Toxicologia computacional, além da criação de softwares de avaliação da toxicidade propriamente ditos, surgem as bases de dados “*estrutura-pesquisáveis*” (informações toxicológicas pesquisadas através da entrada de estruturas químicas), também úteis à predição da toxicidade. Assim, tem sido feito o armazenamento e tratamento de dados de testes toxicológicos, gerando-se valiosas informações de toxicidade, sendo possível, no mínimo, buscar/relacionar dados de toxicidade de determinada entidade química a partir de dados de testes prévios, tendo como base, a pesquisa segundo o grau (medido) de similaridade estrutural (RICHARD, 2001; USEPA, 2009). A integração de dados pode auxiliar na avaliação do peso da evidência de que uma estrutura ou subestrutura química correlaciona-se com determinado efeito tóxico (**fig. 1**)



**Figural:** Comparação esquemática entre as atividades de coleta de dados associada com a construção de um modelo global de predição da toxicidade vs. previsão da toxicidade de uma substância química Q com base na estrutura química. (Adaptado de Richard, 2001).

Quanto aos softwares de avaliação preditiva da toxicidade ou testes *in silico*, estes podem ser mais refinados, baseados em modelos matemáticos, REA, QSAR (*Quantitative Structure-activity Relationship*), PBPK (*Physiologically Based Pharmacokinetic models*), e, podem fazer a predição da toxicidade após seleção, validação metodológica e fundamentação científica dos modelos inseridos, fazendo-se em muitos casos a análise estatística da capacidade preditiva de cada

modelo. O termo “*in silico*” aplica-se ao dado gerado a partir de modelamento computacional ou de tecnologia da informação (IUPAC, 2007).

Os estudos QSAR partem da premissa básica de que existe uma relação entre as características (físico-químicas, topológicas, tridimensionais e conformacionais) de uma estrutura química e a atividade biológica, no contexto de nossa discussão, a toxicidade. A contribuição para a atividade biológica pode então ser atribuída a *descritores estruturais*, com uso de modelos matemáticos, estimando-se a potenciação ou redução da atividade a partir da inserção de substituintes na estrutura (OECD, 2010).

A aplicação ferramentas computacionais, com abordagem em *Toxicologia Preditiva*, tornou-se um campo muito mais sólido, e já é feita por diversas agências e órgãos no mundo (OECD, FDA – Food and Drug Administration, USEPA, Comunidade Européia, entre várias outras), com diversas aplicações, como no contexto regulatório (ex: o programa de segurança de aditivos alimentares da FDA; ações regulatórias da Comunidade Européia); em criação de bases de dados e programas de apoio à avaliação da toxicidade e de risco (ex: ToxCast™, ActoR, e DSSTox da USEPA).

À luz de nosso conhecimento, até a presente data, não há publicação brasileira que faça referência ao uso de ferramentas computacionais para avaliação da toxicidade com fins regulatórios e de avaliação de risco. O presente trabalho tem como objetivo apresentar as várias aplicações da Toxicologia Computacional, focada em métodos *in silico* de predição da toxicidade, já que tais métodos são um avanço científico pouco aproveitado no Brasil, mas fundamentais no atual contexto da produção e segurança química; das políticas de regulação de produtos; e do atendimento a normas internacionais de comercialização.

### **Modelos QSAR e REA no contexto da avaliação da toxicidade *in silico***

Com os avanços nas ciências da computação e da internet, nova ênfase vem sendo dada as tecnologias Q(SAR) aplicada a avaliação da toxicidade e do risco no cenário internacional, devido a sua evolução. Desde 1990 a OECD já vinha fazendo avaliações quanto ao valor preditivo dos estudos (Q)SAR, comparando as predições, além de realizar avaliação e validação de modelos (Q)SAR. Em 2007, a OECD publicou um documento sob o título “*Guidance document on the validation of (Quantitative) Structure-Activity Relationships [(Q)SAR] models*” que apresenta princípios de validação de Q(SAR) em diversas aplicações, objetivando a aceitabilidade regulatória dos resultados por agências (OECD, 2010).

Atualmente, em QSAR aplicada à Ecotoxicologia, usam-se modelos quantitativos, que a partir de dados de estudos com determinada espécie ou grupo, fazem predição da toxicidade, de maneira qualitativa e quantitativa (ex. estimativa de CL50) para outras espécies diferentes das de determinado estudo. Como exemplo, a partir de estudos de toxicidade de aldeídos com peixes e ciliados, considerando variáveis específicas (Log  $K_{ow}$ , reatividade, conformação molecular, etc.), criou-se um modelo quantitativo para a predição da toxicidade para demais espécies de organismos aquáticos (ROY et al., 2004, p.21-23).

Estudos toxicológicos e QSAR têm tornado possível a classificação de grupos de agentes mutagênicos e carcinogênicos, como aminas aromáticas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, lactonas, quinolinas, nitroarenos, epóxidos, aziridinas, mostardas nitrogenadas,  $\alpha$ -haloéter, entre outros. Grupos funcionais ou sub-estruturas conhecidamente ligadas a atividade carcinogênica, formam uma lista de *alertas estruturais*, que sinalizam através de *flags* o potencial de carcinogenicidade de determinada substância, em softwares de predição da toxicidade.

Para o efeito carcinogênico, a maioria dos modelos computacionais (baseados em REA ou QSAR) disponíveis refere-se a agentes genotóxicos, já que há abundância de dados de ensaios (como resultados de Teste de Ames) e de REA, e, os mecanismos são relativamente bem conhecidos. Por outro lado, assim como em um bioensaio, a detecção efeitos carcinogênicos não-genotóxicos tem maior grau de dificuldade, devido a escassez de dados, e, mecanismos ainda não muito bem elucidados, embora já existam alguns modelos computacionais para este *endpoint*.

Existem *softwares* atualmente que atribuem o grau de toxicidade à determinada substância química, considerando as variáveis estruturais e/ou físico-químicas. Como exemplo, pode ser feita a análise de uma estrutura de um composto de fósforo, quanto à presença átomos de C, O, N e/ou S divalente na estrutura, partindo do conhecimento concreto de que a maioria dos inseticidas organofosforados [com tio(fosfatos) sem carga] são tóxicos para a espécie humana; considerando ainda que, por outro lado, fosfatos carregados negativamente ocorrem naturalmente em biomoléculas humanas, e, portanto, são de toxicidade improvável através de inibição de colinesterase.

Em *softwares* deste tipo, geralmente avalia-se o potencial de toxicidade de uma substância, considerando muitos outros efeitos críticos (hepatotoxicidade, genotoxicidade, carcinogenicidade, ecotoxicidade e outros), a partir de muitas informações de Relação Estrutura-Atividade e QSAR.

### **Toxicologia in silico e o estabelecimento de limites de exposição para misturas – Modelos PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic)**

Outra aplicação notável da Toxicologia *in silico* foi realizada por Dobrev e col.(2002). Os autores desenvolveram com ferramentas computacionais *modelos*

---

SANTOS, Carlos Eduardo M. Toxicologia in silico: uma nova abordagem para análise do risco químico. *RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, v. 4, n. 1, p. 47-63, fev. 2011.

*fisiologicamente baseados em farmacocinética (Physiologically Based Pharmacokinetic models – PBPK models)*, para predizer a cinética individual do tricloroetileno (TCE) em mistura com outros solventes (percloroetileno e metilclorofórmio), sugerindo limites de exposição específicos para mistura.

Sabemos que para analistas de risco químico é complexo estabelecimento de limites de exposição para misturas, já que podem ocorrer efeitos sinérgicos, aditivos ou de potenciação, devido a interações (farmacocinéticas ou de efeito), dos componentes da mistura, resultando em toxicidade muito maior que a soma da toxicidade dos componentes, individualmente.

Os autores, considerando que os produtos de biotransformação do TCE gerados via oxidação pelo CYP-450 apresentaram efeito carcinogênico em roedores, e que a forma original e metabólitos gerados por outras vias possuem toxicidades distintas, concluíram que os limites de exposição estabelecidos para o TCE individualmente, não são seguramente aplicáveis a misturas que contenham agentes que (i) induzem a via oxidativa do CYP-450 ou que (ii) inibem vias de inativação e excreção.

Além de considerar o metabolismo, os autores utilizaram modelo farmacocinético *multicompartimental* (mais realístico), *parâmetros fisiológicos* (ventilação alveolar, saída débito cardíaco, fluxo sanguíneo em diferentes órgãos, entre outros) e *bioquímicos* (taxas de metabolismo e outros), específicos para a espécie humana, em vez de considerar parâmetros estritamente animais, geralmente mais distantes do real.

### **Toxicologia in silico e o risco (eco)toxicológico**

Atualmente, a utilização de ferramentas computacionais baseadas em abordagens de REA, modelos QSAR, modelos PBPK e outros modelos, podem

---

SANTOS, Carlos Eduardo M. Toxicologia in silico: uma nova abordagem para análise do risco químico. *RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, v. 4, n. 1, p. 47-63, fev. 2011.

fornecer relevantes informações para o processo de avaliação de risco, como no caso de estimativas de valores de LC<sub>50</sub> e LD<sub>50</sub> para espécies aquáticas e ratos.

Ferramentas desenvolvidas pela OECD, USEPA, Comunidade Européia e outras organizações, fazem uma série de predições, como no caso da predição do modo de ação em relação à toxicidade aquática, a partir de *Alertas Estruturais* e estimativas de características físico-químicas (como o Log Kow). Existem também softwares com uma série de alertas estruturais, que apontam certos grupos funcionais ou sub-estruturas são ligados à persistência ambiental, ou à biodegradabilidade. Se um ou mais alertas estruturais são reconhecidos, o sistema sinaliza através de *flags* o potencial de persistência ou biodegradabilidade da substância química.

Vários outros módulos estão inclusos em ferramentas computacionais, que fornecem informações preditivas, como quanto ao grau de toxicidade aguda; predição da mutagenicidade e carcinogenicidade; predição da toxicidade para reprodução; identificação de Aceptores Michael (espécies químicas reativas); predição de corrosão e irritação ocular e para pele; predição do metabolismo.

As ferramentas computacionais, desde que executadas com pleno conhecimento, fornecem relatórios preditivos de toxicidade, e tem potencial de aplicação em circunstâncias diversas, dentre as quais destacamos:

1- Seleção de compostos candidatos em processo de desenvolvimento de novas substâncias, de acordo com menor toxicidade e maior potencial biodegradação;

2- Caracterização preliminar do perigo e de risco, feita de forma imediata, em sítios nos quais foram liberados agentes ainda não avaliados em ensaios

biológicos (situação em que uma avaliação tradicional demandaria mais tempo para fornecer resultados);

3- Pré-avaliação para racionalização e priorização da avaliação de substâncias potencialmente mais tóxicas em bioensaios;

4- Obtenção de relatório de toxicidade de novas substâncias, enquanto não são obtidos os resultados dos ensaios toxicológicos tradicionais;

5- Complementação de avaliações toxicológicas tradicionais, avaliando-se *endpoints* não considerados nos ensaios toxicológicos tradicionais;

6- Avaliação preditiva da toxicidade em geral.

### **Toxicologia in silico e o contexto regulatório**

Nos sistemas de avaliação *in silico*, grupos funcionais ou subestruturas ligadas com determinada atividade tóxica permitem a classificação de determinada substância quanto ao potencial de toxicidade e ecotoxicidade, o que possibilita a formulação de ações e medidas regulatórias. No que diz respeito ao REACH, o anexo XI do documento regulatório, faz considerações sobre critérios e aplicações dos resultados obtidos de análise QSAR que podem ser utilizados em lugar de ensaios toxicológicos tradicionais:

#### **1.3. Modelos qualitativos ou quantitativos da relação estrutura-atividade — (Q)SAR**

---

SANTOS, Carlos Eduardo M. Toxicologia in silico: uma nova abordagem para análise do risco químico. *RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, v. 4, n. 1, p. 47-63, fev. 2011.

Os resultados da aplicação de modelos válidos qualitativos ou quantitativos da relação estrutura-atividade — (Q)SAR — podem indicar a presença ou ausência de uma determinada propriedade perigosa. **Podem utilizar-se resultados da aplicação de modelos (Q)SAR, em lugar de ensaios, se forem satisfeitas as seguintes condições:**

- se os resultados provierem da aplicação de um modelo (Q)SAR validado cientificamente,
- se a substância se enquadrar no domínio de aplicabilidade do modelo (Q)SAR,
- se os resultados se adequarem aos fins de classificação e rotulagem e/ou de avaliação de riscos, e
- se for fornecida documentação adequada e fiável sobre o método aplicado.

A Agência, em colaboração com a Comissão, os Estados-Membros e as partes interessadas, elabora e fornece orientações que permitam determinar que modelos (Q)SAR satisfazem as referidas condições, apresentando exemplos.

**(Regulamento REACH, anexo XI, p. 120. Grifos nosso)**

Em um documento publicado em 2010 pelo governo do Canadá, sob o título “*The Use Of Predictive Toxicity Tools In Health Assessments Of Existing Substances Under The Canadian Environmental Protection Act*”, faz-se destaque da aplicação das ferramentas computacionais no processo de avaliação de substâncias e ações regulatórias. Como outros países desenvolvidos, o Canadá possui controle de lista (*DSL – Domestic Substances List*) e registro de

substâncias que são comercializadas e utilizadas em seu território, sob legislação específica (*The Canadian Environmental Protection Act*).

## Discussão

Além do tempo e custo das avaliações tradicionais, a racionalização de testes com animais vem sendo amplamente discutida no meio científico. A utilização excessiva e desordenada de animais em testes toxicológicos vem sendo amenizada com a chegada dos métodos alternativos. Com o desenvolvimento no campo da Toxicologia Computacional e dos métodos *In silico*, agências internacionais (USEPA, OECD, Comunidade Européia, e outros) disponibilizaram muitas ferramentas, como apoio/incentivo às avaliações toxicológicas computacionais. Neste novo paradigma, os resultados de testes toxicológicos tradicionais, ao invés de serem descartados ou “engavetados”; são tratados e disponibilizados para pesquisas, adquirindo um valor contínuo, numa espécie de cadeia de construção de evidências de toxicidade.

A utilização de tais ferramentas para avaliação da toxicidade, além de gerarem informações toxicológicas úteis para o atendimento a regulamentações internacionais, considerando as variáveis: custos, tempo e racionalização experimentação animal; possibilitam o desenvolvimento de novos produtos químicos, proporcionando uma seleção racional de compostos candidatos, considerando o potencial de (eco)toxicidade, persistência, bioacumulação, entre outros. Sob nosso ponto de vista, surge mais um componente a ser inserido no ciclo de responsabilidade socioambiental, já que uma organização pode selecionar um candidato menos preocupante no ponto de vista toxicológico e ambiental, de forma preditiva, em um processo de desenvolvimento de um novo produto químico.

## Considerações finais

Ao contrário do que pode ser interpretado numa visão leiga imediatista, essas novas formas de abordagem e técnicas em Toxicologia, extremamente válidas, bem vindas e definitivas, não simplificam ou facilitam o raciocínio toxicológico, mas sim exigem cada vez mais o conhecimento e o domínio do conhecimento das relações estrutura atividade, dose-efeito e dose-resposta e de toda a fenomenologia da intoxicação. Elas são um aprofundamento sistematizado do conhecimento toxicológico, do qual não podem produzir, ou seja, são – relativamente - muito mais um produto da Toxicologia do que da Computação. Além do sólido estabelecimento da Toxicologia Computacional em vários países, o êxito da aplicação de ferramentas computacionais no âmbito do desenvolvimento de fármacos, e, também em monitorização terapêutica (no caso uso de softwares do campo Farmacocinética Clínica) são exemplos claros de que a integração das ciências, em si, constitui o melhor caminho para o futuro que cabe a nós construir.

## REFERÊNCIAS

CAS – Chemical Abstract Service. **CAS Database content at a Glance**. Disponível em: <<http://www.cas.org/expertise/cascontent/ataglance/index.html>>. Acesso em: 10 fev. 2011.

DOBREV, I. D.; ANDERSEN, M. E.; YANG, R. S. H. In Silico toxicology: simulating interaction thresholds for human exposure to mixtures of trichloroethylene, tetrachloroethylene, and 1,1,1-Trichloroethane. **Environmental Health Perspectives**. v. 110, n. 10, p. 1031-1039, 2002.

---

SANTOS, Carlos Eduardo M. Toxicologia in silico: uma nova abordagem para análise do risco químico. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 1, p. 47-63, fev. 2011.

ECHA – European Chemicals Agency. **New study inaccurate on the number of test animals for REACH.** Helsinki: Press Release, 2009.

COLLINS, F. S. et al. Transforming Environmental Health Protection. **Science**, v. 319, p. 906-907, 2008.

REGULAMENTO DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO N. 1907/2006, DE 18 DE DEZEMBRO DE 2006. Dispõe sobre registro, avaliação, autorização e restrição de substâncias químicas (REACH). Anexo XI, p. 120, 2006. Disponível em:  
<<http://eurex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:136:0003:0280:pt:PDF>>. Acesso em: 20 dez. 2010.

IUPAC - INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. IUPAC Glossary of Terms Used in Toxicology. **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, n. 7, p. 1153-1344, 2007. Disponível em:  
<<http://sis.nlm.nih.gov/enviro/iupacglossary/glossaryi.html>>. Acesso em: 20 dez. 2010.

OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development. **Quantitative Structure-Activity Relationships Project [(Q)SARs]**. Disponível em:  
<[http://www.oecd.org/document/29/0,3746,en\\_2649\\_34377\\_42675741\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/29/0,3746,en_2649_34377_42675741_1_1_1_1,00.html)>. Acesso em: 20 dez. 2010.

RICHARD, A. M.; WILLIAMS, C. R. Distributed structure-searchable toxicity (DSSTox) Public Database Network: A Proposal. **Mutation Research**, n. 499, p. 1-27, 2001.

ROY, K.; GOSH, G. Ecotoxicological QSAR modeling using Extended Topochemical Atom (ETA) Indices. **The QSAR and Modeling Society**, n. 15, p. 21-23, 2004.

---

SANTOS, Carlos Eduardo M. Toxicologia in silico: uma nova abordagem para análise do risco químico. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 1, p. 47-63, fev. 2011.

USEPA – United States Environmental Protection Agency. **Computational Toxicology Research Program**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ncct/>> Acesso em: 7 fev. 2010

KAVLOCK, R.; DIX, D.; LINNENBRINK, M. **Fast, automated chemical screening for assessing exposure, hazard and Risk**. Computational Toxicology Program Research. 2009. Disponível em: <[http://www.epa.gov/ncct/download\\_files/factsheets/COMPTOX\\_flyer\\_Sept172010.pdf](http://www.epa.gov/ncct/download_files/factsheets/COMPTOX_flyer_Sept172010.pdf)>. Acesso em: 7 fev. 2010.

**A framework for a computational toxicology**. Washington: U. S. Environmental Protection Agency Office of Research and Development, 2003. Disponível em: <[http://www.epa.gov/ncct/download\\_files/basic\\_information/comptoxframework06\\_02\\_04.pdf](http://www.epa.gov/ncct/download_files/basic_information/comptoxframework06_02_04.pdf)> Acesso em: 7 fev. 2010.

WHO - World Health Organization. **Manual for Public Health Management of Chemical Incidents**. Genebra: WHO Document Production Service, 2009.