



# LIFE EDESIA



Novembre - Dicembre 2014

Volume 1, Numero 4

[www.iss.it/life](http://www.iss.it/life)

LIFE12 ENV/IT/000633

## Sommario:

Editoriale: Regolamento REACH e metodi <i>in silico</i>	1
Editoriale (seguito)	2
LIFE-EDESIA workshop	2
Introduzione alla Tossicologia verde	3
News	4
Progress update e Appuntamenti	5

## EDITORIALE: Regolamento REACH e metodi *in silico*

A cura di Emilio Benfenati, Alessandra Roncaglioni, Istituto Ricerche Farmacologiche Mario Negri (IRFMN), [emilio.benfenati@marionegri.it](mailto:emilio.benfenati@marionegri.it), [alessandra.roncaglioni@marionegri.it](mailto:alessandra.roncaglioni@marionegri.it)

**N**el termine metodi *in silico* sono racchiusi una serie di strumenti che consentono di stimare le proprietà chimico-fisiche, tossicologiche ed eco-tossicologiche di una sostanza chimica tramite simulazioni al computer. Sotto questo ombrello sono compresi i metodi (Q) SAR, di *read-across* e di raggruppamento in categorie.

I primi sono utilizzati per stimare l'attività di una sostanza chimica sulla base di una relazione matematica che associa alcune caratteristiche strutturali della molecola all'attività esplicita. Il *read-across* permette invece di stimare le proprietà di composti chimici utilizzando informazioni su composti simili. Il raggruppamento in categorie consente di valutare le proprietà di un gruppo di sostanze chimiche con caratteristiche simili tali da poter essere valu-

tate in modo comune.

Questi metodi rivestono un certo interesse poiché sono segnalati nel regolamento REACH come possibili strade da percorrere per colmare le lacune sulla caratterizzazione delle sostanze chimiche senza ricorrere all'uso di animali per gli esperimenti. Il loro uso è possibile a patto che siano soddisfatti specifici requisiti di robustezza del metodo e applicabilità alle sostanze specifiche da indagare.

L'Italia è fra le nazioni più attive in Europa per lo sviluppo responsabile dei metodi *in silico* ed infatti i Ministeri della Salute, dell'Ambiente e dello Sviluppo Economico hanno istituito una rete di centri a disposizione delle imprese per l'uso corretto dei metodi *in silico*. Tale [rete](#) è coordinata dall'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri (IRFMN) e dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

In particolare, nell'ambito dei programmi LIFE, diversi progetti vedono coinvolti come coordinatori proprio i già citati enti di ricerca. Per lo sviluppo e l'uso dei metodi *in silico*, l'IRFMN ha avuto un ruolo guida da diversi anni a partire dal progetto ANTARES, in cui una serie di modelli *in silico* che coprono decine di *end-points* di interesse per il Regolamento REACH sono stati valutati per verificarne le loro capacità predittive. Tra questi modelli, elencati nel [sito di ANTARES](#), ne sono stati scelti circa 50 sulla base di otto proprietà prescelte raggrupabili in quattro domini chimico-tossicologici di interesse: i) proprietà chimico-fisiche (solubilità in acqua); proprietà ambientali (fattore di bioconcentrazione e biodegradabilità); iii) ecotossicologia (tossicità acuta nei pesci e tossici-

## Notizie di rilievo:

- [Plasticizzanti-recettori nucleari: un approccio \*in silico\* per il legame con PPARs e RXRs](#)
- [Predittori dell'esposizione a ftalati, parabeni, bisfenolo A e triclosan](#)
- [Rete scientifica EFSA sui materiali a contatto con gli alimenti](#)



## ENVIRONMENT

### LIFE Programme

<http://ec.europa.eu/environment/>



tà acuta in Daphnia) e iv) tossicità umana (test di mutagenicità *in vitro*, test di carcinogenicità e dose letale mediana). Centinaia o migliaia di sostanze chimiche, con dati sperimentali di buona qualità, sono state considerate per eseguire le predizioni con i diversi modelli *in silico*. Gli *end-points* migliori che si possono predire sono risultati essere quelli relativi alle proprietà più semplici come quelle chimico-fisiche o il fattore di bioaccumulo o la mutagenicità. Seguendo le orme di ANTARES, il progetto [LIFE CALEIDOS](#) sta verificando la correttezza delle predizioni dei modelli *in silico* usando i dati delle sostanze registrate presso ECHA, mentre il progetto [LIFE PROSIL](#) si occupa della possibile registrazione di *cluster* di sostanze chimiche quali i colo-

ranti. Inoltre, il progetto [LIFE-EDESIA](#) sta valutando sostanze chimiche che possano sostituire molecole ritenute interferenti endocrini, quali ftalati, bisfenoli e parabeni. In questo ambito alle tecniche precedentemente descritte si affianca l'uso di metodi di *virtual docking* per studiare più specificatamente l'interazione delle sostanze chimiche con i recettori nucleari direttamente coinvolti nei meccanismi di interferenza endocrina.

Infine, il progetto LIFE+ [InREACH](#) appena approvato si focalizzerà sugli aspetti del regolamento REACH inerenti l'importazione delle sostanze chimiche da paesi extra-UE e della tracciabilità delle informazioni a livello doganale per quanto riguarda gli aspetti della loro regolamentazione.

## LIFE-EDESIA WORKSHOP THE ROLE OF *IN SILICO* TOOLS IN SUPPORTING THE APPLICATION OF THE SUBSTITUTION PRINCIPLE 10-11/12/2014

### DECEMBER 10<sup>TH</sup>, 2014

- 14.30-15.00 **Registration of participants**  
 15.00-15.05 **Workshop opening**  
 E. Benfenati – IRFMN, Milan
- LIFE-EDESIA project (chair: S. Lorenzetti)**  
 15.00-15.20 Introduction on LIFE-EDESIA project  
 Alberto Mantovani – ISS, Rome  
 15.20-15.40 The *in vitro* assessment of endocrine disruptors/EDCs Stefano Lorenzetti – ISS, Rome  
 15.40-16.00 The role of chemical synthesis in support of the substitution principle  
 Ferdinando Fiorino / Elisa Perissutti – UniNeaples  
 16.00-16.20 **Discussion**  
 16.20-16.40 **Coffee break**
- Academic perspective (chair: A. Roncaglioni)**  
 16.40-17.00 *In silico* approach in the REACH context: the experience from EC LIFE projects CALEIDOS, PROSIL, etc  
 Emilio Benfenati – IRFMN, Milan  
 17.00-17.20 Advantages and disadvantages of *in silico* tools: their use in addressing EDCs  
 Alessandra Roncaglioni – IRFMN, Milan  
 17.20-17.40 A computational approach to nuclear receptors screening  
 Pietro Cozzini – UniParma  
 17.40-18.00 **Discussion**

### DECEMBER 11<sup>TH</sup>, 2014

- Industry and regulatory perspectives in Risk Assessment (chair: A. Mantovani, E. Benfenati)**  
 09.00–09.20 Industrial approaches towards alternative strategies for EDCs: the food domain  
 Elena Lo Piparo – Nestlé, Lausanne  
 09.20–09.40 Alternative strategies for EDCs: the domain of man-made chemicals  
 Raffaella Butera - Raffaella Butera - Toxicon & UniParma  
 09.40-10.00 **Discussion**  
 10.00-10.30 **Coffee break**  
 10.30-10.50 The role of regulatory agency in addressing EDCs in the framework of REACH legislation: support from *in silico* tools  
 Jürgen Arning – UBA, Dessau-Roßlau  
 10.50-11.10 Last news from ECHA on alternative methods in compliance with the REACH: the Read-Across  
 Maria Teresa Russo – CNSC-ISS, Rome  
 11.10-11.30 **Discussion**
- Round-table of stakeholders (chair: E. Benfenati, A. Mantovani)**  
 11.30-11.40 Livia Biardi – Altroconsumo, Milan  
 11.40-11.50 Valeria Croce – Chemservice, Novate Milanese  
 11.50-12.00 Francesca Caloni – UniMilan  
 12.00-12.10 Anna Auzzi – Polynt, S. Giovanni Valdarno  
 12.10-12.30 Discussion – Question time  
 12.30-12.45 **Concluding remarks**  
 12.45 **Farewell**

## Introduzione alla Tossicologia verde

A cura di Stefano Lorenzetti (Istituto Superiore di Sanità - ISS), Elisa Perissutti, Ferdinando Fiorino, (Università Federico II di Napoli - UniNA), [stefano.lorenzetti@iss.it](mailto:stefano.lorenzetti@iss.it), [perissutt@unina.it](mailto:perissutt@unina.it), [fefiorin@unina.it](mailto:fefiorin@unina.it)

**La** cosiddetta *tossicologia verde* (*Green Toxicology*) è l'applicazione della tossicologia predittiva per la produzione di prodotti chimici a basso impatto tossicologico. La definizione di *tossicologia verde* nasce da quella di *chimica verde* (*Green Chemistry*; <http://www2.epa.gov/green-chemistry> LINK), detta anche *chimica sostenibile*, cioè la progettazione di prodotti chimici e processi che riducono o eliminano l'uso o la produzione di sostanze chimiche pericolose. La *chimica verde*, così come delineato nei *dodici principi* (Per approfondire: <http://greenchemistry.yale.edu/green-chemistry-green-engineering-defined> LINK), che definiscono una strategia di riduzione del rischio, si applica in tutto il ciclo di vita di un prodotto chimico, compresa la sua progettazione, produzione, utilizzo e smaltimento finale, sebbene il principio basilare della *chimica verde* sia quello di ridurre l'inquinamento alla fonte minimizzando o eliminando i rischi di materie prime chimiche, reagenti, solventi e prodotti.

La progettazione e la produzione di prodotti chimici da materie prime, reagenti e solventi che siano meno pericolosi per la salute umana e l'ambiente, ossia meno tossici per gli organismi, meno dannosi per gli ecosistemi, non persistenti e non bioaccumulabili negli organismi o nell'ambiente, meno interferenti con il sistema endocrino-riproduttivo e, in generale, più sicuri da maneggiare perché non infiammabili né esplosivi, sono tutte caratteristiche che tossicologi ed ecotossicologi debbono valutare per informare i progettisti di nuove molecole. A tal fine, quindi, l'ingresso dei tossicologi nelle fasi iniziali della progettazione chimica è essenziale per informare le scelte dei *progettisti molecolari* nella selezione di strategie di progettazione mirate a ridurre la tossicità delle nuove molecole, a renderle meno pericolose sia per i loro effetti collaterali che per quanto riguarda le metodiche di produzione. Le informazioni derivanti dalla combinazione della tossicologia meccanicistica e computazionale costituisce il nesso tra tossicologia e chimica verde che a loro volta costituiscono la base per esaminare, comprendere e descrivere gli aspetti della relazione struttura-rischio da una prospettiva comune utile sia al mondo accademico che a quello industriale.

### I DODICI PRINCIPI DELLA CHIMICA VERDE

**Prevention.** E' meglio prevenire la formazione di rifiuti che trattare/ripulire i rifiuti dopo che sono stati creati.

**Atom Economy.** I metodi di sintesi devono essere progettati per massimizzare l'incorporazione di tutti i materiali usati nel processo nel prodotto finale.

**Less Hazardous Chemical Syntheses.** Per quanto possibile, i metodi di sintesi dovrebbero essere progettati per utilizzare e generare sostanze che possiedono poco o nulla tossicità per la salute umana e l'ambiente.

**Designing Safer Chemicals.** I prodotti chimici devono essere progettati per influenzare la loro funzione desiderata, riducendo al minimo la loro tossicità.

**Safer Solvents and Auxiliaries.** L'uso di sostanze ausiliarie (ad esempio, solventi, agenti di separazione, etc.) dovrebbe essere superflua ove possibile e innocuo quando utilizzato.

**Design for Energy Efficiency.** Il fabbisogno energetico di processi chimici devono essere riconosciuti per il loro impatto ambientale ed economico e devono essere ridotti al minimo. Se possibile, le sintesi dovrebbero essere condotte a temperatura e pressione ambiente.

**Use of Renewable Feedstocks.** Utilizzare materie prime rinnovabili.

Una materia prima o come materia prima dovrebbe essere rinnovabile piuttosto che impoveriscono ogniqualevolta ciò sia tecnicamente ed economicamente fattibile.

**Reduce Derivatives.** Le derivatizzazioni (uso di gruppi bloccanti, protezione/deprotezione, modifiche temporanee di processi fisici/chimici) deve essere ridotte al minimo o da evitare, se possibile, in quanto tali misure richiedono reagenti aggiuntivi e possono generare rifiuti.

**Catalysis.** I reagenti catalitici (il più possibile selettivi) sono superiori ai reagenti stechiometrici.

**Design for Degradation.** I prodotti chimici devono essere progettati in modo che al termine della loro funzione si scompongono in prodotti di degradazione innocui e non persistono nell'ambiente.

**Real-time analysis for Pollution Prevention.** Metodologie analitiche devono essere ulteriormente sviluppato per consentire in tempo reale, in-processo di monitoraggio e controllo prima della formazione di sostanze pericolose.

**Inherently Safer Chemistry for Accident Prevention.** Le sostanze e la forma di una sostanza utilizzata in un processo chimico dovrebbero essere scelti per ridurre al minimo il rischio di incidenti chimici, tra cui stampa, esplosioni e incendi.

## NEWS

### Plasticizzanti-recettori nucleari: un approccio *in silico* per il legame con PPARs e RXRs

Un esauriente studio *in silico* riguardante le interazioni molecolari e le affinità di legame di 15 ftalati e relativi metaboliti nonché del bisfenolo A/BPA con i diversi sottotipi  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  dei recettori nucleari hPPAR e hRXR è stato condotto confrontando tali plasticizzanti con altre molecole di origine naturale o sintetiche note per interagire o con gli hPPARs o con gli hRXR. In generale, i ligandi naturali di hPPAR mostrato una minore efficienza di legame rispetto agli esteri dell'acido ftalico e dei farmaci. In particolare, il di-(2-etilesil) ftalato/DEHP ha mostrato una maggiore preferenza per hRXRs rispetto a hPPARs così come dimostrato anche per il BPA. In sintesi, questo studio offre una panoramica sulle preferenze di legame degli esteri dell'acido ftalico, dei ligandi naturali e sintetici dei sottotipi  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  di hPPAR e hRXR, che porterebbe ad ulteriori studi *in vitro* di tipo meccanicistico, nonché a studi *in vivo* preclinici e clinici.

[J Appl Toxicol. 2014 Jul;34\(7\):754-65.](#)



### Predittori dell'esposizione a ftalati, parabeni, bisfenolo A e triclosan

**U**n recente studio ha valutato l'esposizione combinata a ftalati, parabeni, bisfenolo A (BPA) e triclosan (TCS) in 98 coppie madre-bambino (6-11 anni) svedesi di aree rurali e urbane per indagare potenziali predittori dell'esposizione.

Lo studio ha evidenziato una buona correlazione dei biomarcatori di esposizione tra madri e bambini ed in particolare: i) valori più alti degli ftalati DEHP, DiNP nei bambini rispetto alle madri; ii) valori più alti di parabeni nelle madri rispetto ai bambini; iii) livelli di ftalati a basso peso molecolare (PM) più alti in madri e bambini delle aree rurali (per il largo uso di pavimentazioni plastiche contenenti PVC) rispetto a quelli delle aree urbane; iv) livelli di parabeni (metil- e propil-parabene) più alti nei bambini delle aree urbane rispetto a quelli delle zone rurali. Inoltre, i livelli di ftalati ad alto PM sono stati associati con il consumo di alimenti quali cioccolato e gelato, mentre quelli dei parabeni con l'uso di cosmetici e prodotti per la cura personale.

[Environ Int. 2014, 73:323-33.](#)

### Rete scientifica EFSA sui materiali a contatto con gli alimenti

**L**o scorso 12-14 novembre 2014 si è tenuto a Parma il [primo incontro della rete EFSA](#) sugli ingredienti e gli imballi alimentari istituita quest'anno. Gli esperti scientifici degli [Stati membri](#) si sono riuniti discutere delle più recenti attività, metodiche e sfide in ambito di valutazione dei rischi connessi ai materiali a contatto con gli alimenti.

Attualmente la regolamentazione sui materiali a base di plastica, plastica riciclata e alcune ceramiche destinati al contatto con gli alimenti è armonizzata nei vari Paesi nell'UE, ma una grande varietà di materiali non in plastica, pure destinati al contatto con gli alimenti, non è disciplinata a livello UE. Tali materiali includono alcuni rivestimenti, carta e cartone, adesivi, inchiostri da stampa e gomma. Tutti questi materiali possono essere utilizzati, per esempio, nelle confezioni e nei contenitori per alimenti, oltre che negli utensili da cucina.

Per approfondire [EFSA terms of reference](#)

## PROGRESS UPDATE DAL 1 LUGLIO 2013 AL 15 DICEMBRE 2014

### Deliverable, Milestone e Report



**A1.** Lista 1 preliminare di sostanze chimiche già studiate come potenziali sostituti di parabeni, bisfenoli e ftalati (15.09.13)

**E1.** Kick-off meeting (14.10.13)

**E1.** Primo Steering Committee Meeting (14.10.13)

**D3.** Sito web (14.10.13)

**D4.** Brochures in italiano e inglese (14.10.13)

**D4.** Installazione primo Notice board (31.12.13)

**A1.** Report su Lista 1 dei potenziali sostituti di parabeni, bisfenoli e ftalati (15.01.14)

**D5.** Meeting con rappresentanti EFSA (21.03.14)

**C1.** Report su Indicators of impact monitoring (31.03.14)

**C1.** Primo Impact monitoring report (31.03.14)

**D1.** Primo Dissemination plan (31.03.2014)

**E1.** Partnership Agreement (07.04.14)

**D2.** Lista Stakeholders del LIFE-EDESIA panel (11.04.14)

**D4.** Newsletter no.1 (11.04.14)

**C1.** INCEPTION REPORT

**D5.** Meeting (webinar) con rappresentanti ECHA (25.06.2014)

**D2.** Prima intervista agli stakeholders (30.06.14)

**E2.** Primo Monitoring report (30.06.14)

**D4.** Newsletter no.2 (15.07.14)

**D5.** Report dei seminari EFSA ed ECHA (06.08.14)

## APPUNTAMENTI

- [EFSA-WHO Stakeholder meeting: "Threshold of Toxicological Concern", 02 dicembre 2014, Bruxelles \(B\)](#)
- [KEMI \(Swedish Chemical Agency\): "Workshop on emerging trends in methods to identify endocrine disruptors", 9 dicembre 2014, Södertälje \(SE\)](#)
- [Plasticisers 2014 Conference, 9-10 dicembre 2014, Bruxelles \(B\)](#)
- [LIFE-EDESIA workshop on "The role of \*in silico\* tools in supporting the application of the substitution principle", 10-11 dicembre 2014, Milano](#)

## CONTATTACI...Come Il BPA siamo ubiquitari



<http://www.iss.it/life>



<http://www.iss.it/life/index.php?lang=2>



[life.edesia@iss.it](mailto:life.edesia@iss.it)



<https://www.facebook.com/pages/Life-Edesia/180734252116032?ref=stream>



Istituto Superiore di Sanità - Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria.  
Viale Regina Elena,299 - 00161 Roma



Tel.: +39-06-49902512