



S. Špirtović-Halilović,^{a*} V. Filipović Marijić,^b
E. Veljović,^a A. Osmanović,^a U. Glamočlija,^{a,c,d}
M. Salihović,^a M. Pazalja,^a L. Hindija^a i D. Završnik^a

^a Univerzitet u Sarajevu, Farmaceutski fakultet
Zmaja od Bosne 8, 71 000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

^b Institut Ruđer Bošković, Zavod za istraživanje mora i okoliša
Bijenička 54, 10 000 Zagreb, Hrvatska

^c Univerzitet u Mostaru, Medicinski fakultet
Kralja Petra Krešimira IV b.b., 88 000 Mostar, Bosna i Hercegovina

^d Naučno-istraživačko odjeljenje, Bosnalijek d. d.
Jukićeva 53, 71 000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Spojevi iz morskih organizama: *in silico* skrining u potrazi za potencijalnim lijekom protiv SARSCoV-2

Uvod

Ministarstvo za nauku, visoko obrazovanje i mlade, Kanton Sarajevo, Bosna i Hercegovina raspisalo je 2021. Javni poziv za dodjelu finansijskih sredstava za sufinansiranje naučnoistraživačkih/umjetničkoistraživačkih i istraživačkorazvojnih projekata iz Budžeta Kantona Sarajevo za 2021. (Javni poziv Ministarstva za nauku, visoko obrazovanje i mlade Kantona Sarajevo, broj: 27-02-11-12880/21 od 25. 5. 2021.)

Taj poziv povezao je istraživače iz Bosne i Hercegovine i Republike Hrvatske da pokušaju dati svoj doprinos u borbi protiv teškog akutnog respiratornog sindroma koronavirus 2 (SARS-CoV-2) u okviru projekta "Spojevi iz morskih organizama: *in silico* skrining u potrazi za potencijalnim lijekom protiv SARSCoV-2". Voditelj projekta je prof. dr. Selma Špirtović-Halilović, izvanredni profesor na Farmaceutskom fakultetu Sveučilišta u Sarajevu. Suradnici na projektu s Farmaceutskog fakulteta Sveučilišta u Sarajevu su prof. dr. Elma Veljović, doc. dr. Amar Osmanović, doc. dr. Una Glamočlija, prof. dr. Davorka Završnik, prof. dr. Mirsada Salihović, doc. dr. Mirha Pazalja, ass. Lamija Hindija, mr. ph. student doktorskog studija. U projektnom timu je i suradnica s Instituta Ruđer Bošković iz Zagreba dr. sc. Vlatka Filipović Marijić, viši znanstveni suradnik na Zavodu za istraživanje mora i okoliša, Laboratoriju za biološke učinke metala (slika 1).

U trenutku prijave ovog projekta i njegova provođenja u cijelom je svijetu u tijeku pandemija teškog akutnog respiratornog sindroma koronavirus 2 (SARS-CoV-2). Virus SARS-CoV-2 može izazvati ozbiljne zdravstvene probleme povezane sa značajnom smrtnošću. Osim provođenja kampanje cijepljenja, u cijelom svijetu aktivno se provode i kampanje otkrivanja lijekova koji će djelovati na virus.¹ Enzimi virusa dobro su poznata ciljna mjesta djelovanja lijekova koji se već upotrebljavaju protiv ozbiljnih kroničnih virusnih infekcija kao što su virus humane imunodeficijencije (HIV) ili virus hepatitisa C (HCV).² SARSCoV-2 glavna proteaza (SARS-CoV-2 Mpro) i papain-slična proteaza (PLpro, dio nsp3) važni su enzimi u životu virusa SARS-CoV-2 i smatraju se ozbiljnim meta-ama za moguće lijekove. U kratkom vremenu, tijekom pandemije, u literaturi je objavljen velik broj radova o *in silico* istraživanjima različitih spojeva sa svrhom otkrivanja potencijalnog lijeka za SARS-CoV-2.³ Važna metoda koja to omogućava je *docking*, računalni proces koji provodi predviđanje vezivanja liganda (lijeka) za receptor te njegovu orijentaciju na mjestu vezivanja. *Docking* precizno modelira strukturu i pravilno predviđa aktivnost. U toj

sofisticiranoj računalnoj metodi receptor može biti enzim koji je važan za život virusa, odnosno istražuje se veže li se potencijalni lijek na enzim bitan za život virusa. Primjenom *dockinga* na receptore (enzime) bitne za život SARS-COV-2 ubrzan je proces ispitivanja može li neki od ciljanih spojeva biti potencijalni lijek u tretmanu SARS-COV-2 infekcije.

Jedan od programa koji daje odgovore na pitanja mogućnosti vezanja spojeva za receptore je SeeSAR. Desetljećima prije pandemije, grupa autora razvila je "Pravilo petice", alat za medicinske kemičare koji se upotrebljava za brzu procjenu spojeva tijekom postupka otkrivanja i optimizacije lijeka s obzirom na mogućnost da spojevi pokažu dobru topljivost i propusnost. Primjena "Pravila petice" vrijedan je alat za otkrivanje lijekova, koji može povećati vjerojatnost razvoja lijeka koji ima dobru oralnu apsorpciju.⁴ Prethodno provedena istraživanja pokazala su da spojevi iz morskih organizama mogu biti dobre sirovine za stvaranje originalnih farmaceutskih supstancija i lijekova.^{5,6} Tijekom evolucije neki morski organizmi razvili su mnoge antiinfektivne strategije i molekule koje ih štite od napada mikroba i virusa koji nastanjuju morsko okruženje. Spojevi izolirani iz morskih organizama koji su sposobni inhibirati DNA i RNA viruse, uključujući koronavirus, pripadaju različitim grupama spojeva.⁷⁻¹⁰ Različitost tih kemijskih klasa povezana je s različitim mehanizmima koje svaka od njih upotrebljava za inhibiciju koronavirusa.

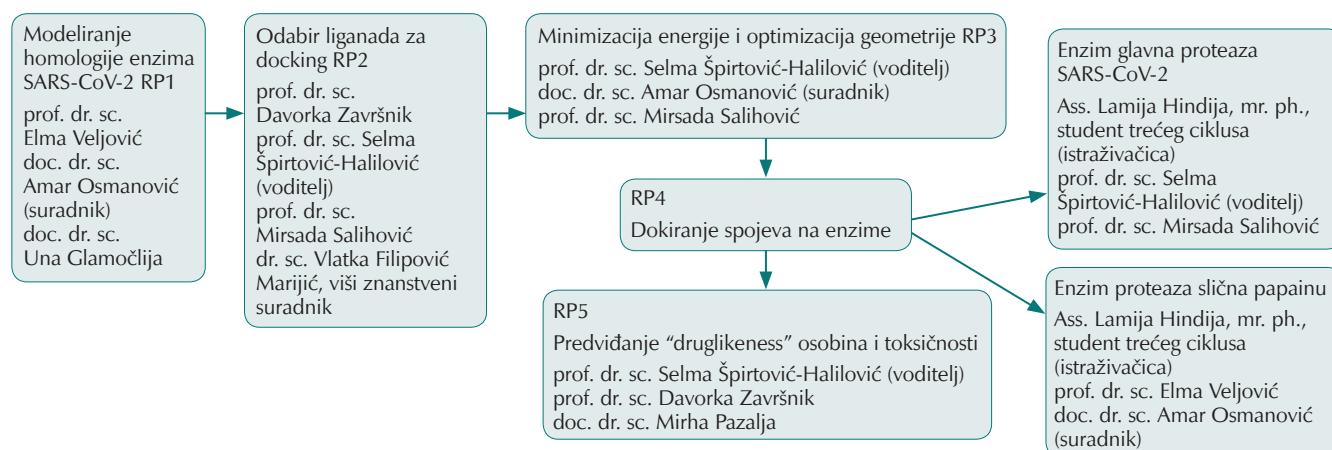
Uzimajući u obzir sve navedeno, odabrat će se minimalno 50 najzanimljivijih spojeva iz morskih organizama da bi se ispitalo njihovo vezanje za enzime važne za život SARS-CoV-2: glavnu proteazu SARS-CoV-2 i proteazu sličnu papainu. Također, ako se u međuvremenu u literaturi pokažu kao važne mete i drugi enzimi virusa, uključit će se u ispitivanje. Da bi se testirala moguća upotreba spojeva te vrste *per os*, potrebno je testirati i "Lipinskijevo pravilo petice", ali i njihovu toksičnost. Prema našim saznanjima u Bosni i Hercegovini do sad ne postoje *docking* ispitivanja morskih organizama na enzimima važnim za život SARSCoV-2. Prema tome, poseban značaj ovog znanstvenog projekta je što predstavlja prvu istraživačku potragu u Bosni i Hercegovini za potencijalnim lijekom na SARS-CoV-2 koji je morskog porijekla, a primjenjuje tu modernu metodologiju. Morski organizmi su neiskorišteni potencijal Bosne i Hercegovine, a općenito su rijetka istraživanja s tom tematikom i u susjednim zemljama.

Ciljevi

Ciljevi ovog projekta su:

1. *In silico* metodom molekularnog *dockinga* ispitati mogućnost vezanja velikog broja spojeva iz morskih organizama na enzi-

* Autor za dopisivanje: prof. dr. sc. Selma Špirtović-Halilović
e-pošta: selma.spirtovic-halilovic@fsa.unsa.ba



Slika 1 – Projektne aktivnosti i suradnici odgovorni za provođenje pojedinih radnih paketa

me važne za život SARS-CoV-2: glavnu proteazu SARS-CoV-2 i proteazu sličnu papainu.

- Da bi se testirala moguća upotreba spojeva te vrste *per os*, testirati spojeve iz morskih organizama na "druglikeness osobine", odnosno fizičko-kemijske osobine koje im daju mogućnost da budu lijekovi, a zatim im ispitati toksičnost.

Ispunjavanjem postavljenih ciljeva dobit će se odgovor može li neki od ispitivanih spojeva biti potencijalni lijek u tretmanu SARS-COV-2 infekcije.

Metode istraživanja

SeeSAR programski paket primjenjivat će se za *docking* istraživanja. Računat će se energije vezivanja ispitivanih molekula iz morskih organizama s ciljnim proteinima virusa. Također, predmet računanja su i inhibicijske konstante koje karakteriziraju vrstu vezanja te ostatci aminokiselina koji sudjeluju u interakciji s proteinom.

Predviđanje "druglikeness" osobina i toksičnosti

Predviđanje "druglikeness" osobina i toksičnosti za spojeve iz morskih organizama provest će se u svrhu procjene imaju li supstancije fizičko-kemijske osobine nužne za peroralnu primjenu, kao i jesu li minimalno toksične za ljudsku upotrebu. Analize se provode pomoću SwissADME i ProTox-II virtualnih laboratorija za predviđanje "druglikeness" osobina i toksičnosti malih molekula. Strukture testnih supstancija prenijet će se na server virtualnih laboratorija te će se dobiti rezultati koji će ukazati na potencijalnu toksičnost, a moći će se usporediti i s već prijavljenim antivirusnim lijekovima.

Očekivani rezultati

Uz minimalni utrošak materijalnih sredstava, bez zagađivanja životne sredine i ugrožavanja ljudi, dobit će se dragocjeni podatci koji će biti dostupni širokoj istraživačkoj zajednici, posebno kroz objavljene publikacije.

Rezultati projekta omogućit će dobivanje baze za *in vitro* ispitivanja odabranih spojeva na SARS-CoV-2 koja će se upotrebljavati u svrhu budućih *in vitro* ispitivanja. Rezultati će se također upotrebljavati za istraživanja i edukaciju studenata u okviru završnih radova.

Literatura

- S. Ullrich, C. Nitsche, The SARS-CoV-2 main protease as drug target, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **30** (17) (2020) 127377, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127377>.
- A. A. Agbowuro, W. M. Huston, A. B. Gamble, J. D. A. Tyn-dall, Proteases and protease inhibitors in infectious diseases, *Med. Res. Rev.* **38** (4) (2018) 1295–1331, doi: <https://doi.org/10.1002/med.21475>.
- P. Eleftheriou, D. Amanatidou, A. Petrou, A. Geronikaki, *In Silico* Evaluation of the Effectivity of Approved Protease Inhibitors against the Main Protease of the Novel SARS-CoV-2 Virus, *Molecules*. **25** (11) (2020) 2529, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25112529>.
- C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **46** (1-3) (2001) 3–26, doi: [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0).
- H. Malve, Exploring the ocean for new drug developments: marine pharmacology, *J. Pharm. Bioallied. Sci.* **8** (2020) 83–91, doi: <https://doi.org/10.4103/0975-7406.171700>.
- T. S. Zaporozhets, N. N. Besednova, Biologically active compounds from marine organisms in the strategies for combating coronaviruses, *AIMS Microbiol.* **6** (4) (2020) 470–494, doi: <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020028>.
- M. Donia, M. T. Hamann, Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents, *Lancet. Infect. Dis.* **3** (2003) 338–348, doi: <https://doi.org/10.4103/0975-7406.171700>.
- V. Stonik, Studies on natural compounds as a road to new drugs, *Her. Russ. Acad. Sci.* **86** (2016) 217–225, doi: <https://doi.org/10.1134/S1019331616030187>.
- K. Pyrc, B. Bosch, B. Berkhout et al., Inhibition of human coronavirus NL63 infection at early stages of the replication cycle, *Antimicrob. Agents Chemother.* **50** (2006) 2000–2008, doi: <https://doi.org/10.1128/AAC.01598-05>.
- D. Gentile, V. Patamia, A. Scala, M. T. Sciortino, A. Piperno, A. Rescifina, Putative Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease from A Library of Marine Natural Products: A Virtual Screening and Molecular Modeling Study, *Mar. Drugs*. **18** (4) (2020) 225, doi: <https://doi.org/10.3390/md18040225>.

IZVOR FINANCIRANJA

Ovaj projekt financira Ministarstvo za nauku, visoko obrazovanje, i mlade, Kanton Sarajevo, Bosna i Hercegovina, ugovor broj 27-02-11-41250-15/21 od 19. 11. 2021.