



BioProspecting – otkrivanje ljekovitih spojeva u prirodnim proizvodima

Prirodni spojevi i njihove podstrukture odavno su vrijedne polazišne točke za medicinsku kemiju i otkrića lijekova. Od najranijih dana medicine okrenuli smo se prirodi za naše postupke. Od primjene ekstrakta digitalisa kao lijeka za zatajivanje srca, do uporabe vitamina C za sprječavanje skorbuta, mnogi su prvi postupci liječenja razvijeni zahvaljujući proučavanju ljekovitog djelovanja biljaka i izoliranju specifičnih spojeva koji su odgovorni za njihova terapijska svojstva. Kako napreduju poznavanje medicinske kemije i kemijske sinteze, farmaceutska industrija postaje sve vještija u stvaranju sintetičkih analoga prirodnih spojeva, kako bi se smanjila ovisnost o prirodnim izvorima ili poboljšala svojstva lijeka kao što su terapijska snaga, bioraspoloživost ili metabolizam, a to se postiže pažljivim modificiranjem strukture molekula.¹ Doista, oko 40 % lijekova dostupnih danas na tržištu potječe od kemijskih struktura pronađenih u prirodi.^{2,3}

Ipak, tijekom posljednjih nekoliko desetljeća utjecaj prirodnih spojeva na otkrića lijekova znatno je smanjen, dijelom zbog poteškoća oko izoliranja i sinteze tih kompleksnih molekula, kao i zbog izazova povezanih s njihovim pregledavanjem pomoću testova visoke propusnosti, koji se obično primjenjuju za identificiranje potencijalno vodećih spojeva. Međutim industrija bi sada mogla biti na prekretnici. Posljednjih godina oživjelo je zanimanje za uključivanje prirodnih spojeva i njihovih podstrukture u zbirke proizvoda za pregledavanje. U ovom radu autor razmatra kakvu ulogu u revitalizaciji iznalaženja lijekova temeljenih na prirodnim proizvodima imaju napredak u tehnologiji i usvajanje alternativnih strategija pobira.

Revolucija pregleda velike propusnosti

Uvođenje kombinatorne kemije i pregleda velike propusnosti (eng. *high-throughput screening* – HTS) prije tri desetljeća dramatično je promijenio otkrivanje lijekova. Primjenom jednostavnih kemijskih ili staničnih testova kako bi se brzo utvrdilo vežu li se male molekule na određeni biološki cilj, HTS-pristupi sada omogućuju potencijalno milijunima spojeva da se brzo pregledaju u potrazi za obećavajućim molekulskim strukturama koje se mogu optimizirati u moćne terapeutike. Zajedno sa strategijama za oblikovanje knjižnica “sporednih” spojeva sličnih drogi i određivanje prioriteta uspješnica – kao što je, među ostalima Lipinskijevo “pravilo od pet”, – HTS je doveo do značajnog napretka u otkrivanju vodećih spojeva i smanjenju stope istrošenosti u razvoju farmaceutika.

Bez obzira na to, nastojanja da se racionalizira otkrivanje novih lijekova također su ograničena na relativno mali kemijski prostor. Strategije kombinatorne kemije suzile su pretragu na male, plosnate, sintetski poslušne spojeve, s relativno malo funkcionalnih skupina. Zbog svoje veličine i povećanog potencijala za međudjelovanja vodikovih veza, prirodni spojevi mogli bi biti prvi koji će biti isključeni kao prioriteti ili uklonjeni iz programa pregleda ako se primijeni kruto tumačenje Lipinskijevih pravila.

Kao rezultat toga prirodni spojevi naseljavaju područja kemijskog prostora koja su u velikoj mjeri zanemarena u suvremenim postupcima otkrivanja lijekova. Zapravo, smatra se da je samo 20 % struktura koje sadrže aromatski prsten, a nalaze se u prirodnim spojevima, prisutno u lijekovima na tržištu. Sa svojom bogatom

stereokemijom i raznovrsnošću farmakofora, ti spojevi imaju potencijal biti jednako, ako ne i više učinkoviti od struktura koje su bile farmakološki prioriteti posljednjih godina. Uostalom, prirodni proizvodi već su predisponirani za interakciju s biološkim sustavima, a njihovim zanemarivanjem industrija bi mogla ostati bez širokog raspona terapijski zanimljivih struktura.

Renesansa prirodnih proizvoda

Nakon desetljeća pada, prirodni proizvodi sada doživljavaju nešto kao renesansu, zahvaljujući povećanom interesu za njihovu upotrebu za izazovnije ciljeve, poput onih s antimikrobnim potencijalom ili gdje mehanizmi interakcije među proteinima igraju ključnu ulogu.⁵ Na toj prvoj točki, širok raspon mehanizama otpora što ga pokazuju mikroorganizmi znači da prilagođavanje strukture postojećih molekula postaje sve neučinkovitije za razvoj novih antimikrobnih sredstava. Ugledanje na spojeve koje proizvode biljke, životinje i mikroorganizmi u njihovoj vlastitoj antimikrobnoj utrci za oružje moglo bi pružiti bolju mogućnost otkrivanja sljedeće generacije lijekova. Osim toga, pojavljivanje genomske zasnovane cilja otkrilo je širok raspon meta poput faktora transkripcije i strukturnih proteina koji ne odgovaraju tradicionalnom modelu “brave i ključa”. Jedan od načina za prilagođavanje tih ciljeva, koji se ne mogu jednostavno pretvoriti u lijekove, mogao bi biti kroz remećenje međudjelovanja među proteinima, i čini se da veće molekule imaju bolje izgleda izvršiti taj učinak.

Industrija također sve više shvaća moguće dobitke koji se mogu polučiti odmahom od oralne primjene – put kojim se dizajn lijekova tradicionalno usmjeravao na strukture koje preferiraju Lipinskijeva pravila. Podsjećamo da primjena tih pravila ne mora nužno rezultirati terapijski učinkovitom molekulom lijeka; ona su jednostavno svojstva povezana s velikom vjerojatnošću dobre bioraspoloživosti kada se apsorbiraju kroz crijevo. Za lokaliziranu dostavu u pluća, čimbenici koji imaju prioritet po Lipinskijevim pravilima mogu zapravo ometati terapijsku učinkovitost molekule lijeka. Više ne ograničavajući dizajn lijeka na te uske kriterije, može se istražiti znatno veće područje kemijskog prostora, uključujući i prirodne proizvode. Metode pregleda koje se zasnivaju na fragmentaciji molekula i napredak analitičke tehnologije te alternativne strategije analize također čine pristupačnijim otkrivanje novih lijekova na bazi prirodnih spojeva. Poboljšanja analitičke osjetljivosti i preciznosti tehnika detekcije znači da sada možemo preciznije istražiti kako molekule lijeka djeluju u interakciji s mjestima vezanja proteina. Ti napredci omogućili su da pregledi zasnovani na probiranju fragmenata igraju sve važniju ulogu u otkrivanju uspješnica. Ovdje, umjesto da traži molekularne podudarnosti koristeći kompletne spojeve, unutarnja struktura džepa za vezanje može se istražiti uvođenjem malih kemijskih fragmenata temeljenih na specifičnim funkcionalnim skupinama. Dok se pojedini fragmenti vezuju za protein slabije od većih molekula, te interakcije mogu se detaljno proučavati vrlo osjetljivim tehnikama kao što su nuklearna magnetska rezonancija (NMR), površinska rezonancija plazmona i kapilarna elektroforeza. Podržane računalnim pristupima, te strukturne informacije mogu se potom kombinirati kako bi se dizajnirale kompletne molekule. Napredak u snazi računala također pomaže da taj proces bude znatno brži i učinkovitiji. Danas se mjesta vezanja za proteine mogu rutinski modelirati kako bismo proučavali kako se veliki spojevi, poput prirodnih proizvoda, mogu uklopiti u taj prostor. Na taj način razvojni programeri lijekova mogu bolje predvidjeti

kako funkcionalne skupine u većim prirodnim proizvodima mogu stupiti u interakciju s vezivnim džepovima i kako se prirodni spojevi mogu strukturno prilagoditi za bolje uklapanje unutar mješta vezivanja. To vrijedi i za obrnuti proces. Računalni alati za predviđanje ciljeva sada omogućuju prepoznavanje potencijalnih ciljeva i predviđanja izvan ciljanih učinaka vodećih spojeva.^{6,7}

U kombinaciji sa strategijama za fenotipski probir visoke propusnosti, gdje određeni cilj još nije uspostavljen, te metode mogu naglasiti moguće smjerove daljnjih istraživanja. Jednom kada se identificiraju prikladne strukture, najnovije biosintetske strategije mogu mnogo jednostavnije sintetizirati te složene molekule. Nedavni napredak u sekvencioniranju genoma rezultirao je identifikiranjem mnogih metaboličkih puteva koji se mogu iskoristiti u svrhu dizajniranja lijekova. Ti se pristupi, temeljeni na modificiranim enzimskim putevima unutar stanica, mogu potencijalno upotrijebiti za provedbu složenih kemijskih modifikacija na supstratima iz prirode, koji bi inače predstavljali velike zahtjeve za sintetičku kemiju.

Zaključak

Dok je priroda bila važan izvor lijekova tijekom ljudske povijesti, vrijednost prirodnih proizvoda u otkrivanju lijekova u posljednje vrijeme pomalo zanemarena. Međutim interes za njihovu uporabu oživljava, u velikoj mjeri potaknut prepoznavanjem njihovog ogromnog potencijala u potrazi za novim antimikrobnim sredstvima i njihovom učinkovitošću na izazovne ciljeve, sve temeljeno na poremećajima interakcija među proteinima. Alternativne strategije probira, kao što su pristup preko fragmenata i fenotipova, kao i napredak u tehnologiji detekcije uzoraka, imaju potencijal otvoriti neistražena područja kemijskog prostora naseljena tim važnim strukturama u potrazi za novim i učinkovitim postupcima.

Literatura

1. Z. Guo, The modification of natural products for medicinal use, *Acta Pharm. Sin.* B 7 (2) (2017) 119–136, doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.06.003>.
2. J. E. John, Natural products-based drug discovery: some bottlenecks and considerations, *Curr. Sci.* 96 (6) (2009) 753–754.
3. D. Newman, G.M. Cragg, Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014, *J. Nat. Prod.* 79 (3) (2016) 629–661, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>.
4. T. Rodrigues D. Reker, P. Schneider, G. Schneider, Counting on natural products for drug design, *Nat. Chem.* 8 (2016) 531–541, doi: <https://doi.org/10.1038/nchem.2479>.
5. A. L. Harvey, R. Edrada-Ebel, R. J. Quinn, The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era, *Nat. Rev. Drug Discov.* 14 (2) (2015) 111–129, doi: <https://doi.org/10.1038/nrd4510>.
6. T. Cheng M. Hao, T. Takeda, S. H. Bryant, Y. L. Wang, Large-Scale Prediction of Drug-Target Interaction: a Data-Centric Review, *AAPS J.* 19 (5) (2017) 1264–1275, doi: <https://doi.org/10.1208/s12248-017-0092-6>.
7. A. Koutsoukas B. Simms, J. Kirchmair, P. J. Bond, A. V. Whitmore, S. Zimmer, M. P. Young, J. L. Jenkins, M. Glick, R. C. Glen, A. Bender, From *in silico* target prediction to multi-target drug design: Current databases, methods and applications, *J. Proteomics* 74 (12) (2011) 2554–2574, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.05.011>.

Izvor: Simon Pearce, PharmTech, 24. siječnja 2018.

Umjetna inteligencija bitna je za održivu farmaceutsku industriju

Kao društvo suočeni smo s velikim izazovima i vjerojatno ćemo morati upregnuti umjetnu inteligenciju da bismo ih razriješili. Važna su pitanja kako održavati zdravo društvo, poboljšavati skrb o bolesnicima i razvijati učinkovite nove lijekove za bolesti koje još ne znamo liječiti. Na primjer, demencija je trenutno vodeći uzrok smrtnosti u Ujedinjenom Kraljevstvu i dio je veće slike o tome kako se društvo prilagođava povećanoj duljini življenja. Drugi zastrašujući milenijski izazov – povećanje otpornosti mikroorganizama na antibiotike – moglo bi nas doslovno vratiti u mračno doba medicine.

Umjetna inteligencija može pomoći revolucioniranjem sadašnjih procesa otkrivanja novih lijekova i korjenitom promjenom načina na koji dolazimo do novih spoznaja o bolestima. Ta tehnologija može pristupiti postojećim istraživanjima i informacijama mnogo učinkovitije i učiniti farmaceutsku industriju djelotvornom u njezinim postupcima. Povećanim naporima stručnjaka na tom području ona može poboljšati inovacije u farmaceutici i smanjiti otpore prema njima.

Prepreke razvoju novih lijekova

Eksponencijalni rast medicinskih informacija ogroman je izazov znanstvenom istraživanju pa slijedom toga i razvoju farmaceutika. Prosječni istraživač u biomedicini bori se sa stalno rastućom nesavladivom količinom podataka. Na primjer, baza podataka PubMed raste za tisuće novih jedinica svaki dan. Međutim, unatoč rastu informacija i znanja, procesi istraživanja i razvoja



u farmaceutskoj industriji zapravo se nisu mijenjali više od 50 godina. Sama količina informacija nije jedini problem. Znanstvene informacije često se sastoje od nesređenih, "nestrukturiranih" podataka koje je teže probaviti i obraditi, pa ih je stoga u potrazi za novim informacijama teže i pretraživati. To znači da industriji i istraživačima treba više vremena da dođu do informacija koje su im potrebne za formuliranje nove hipoteze. Mnogi istraživači u industriji provedu cijeli radni vijek a da ne razviju nijedan novi lijek.

Široko je prihvaćeno da od identifikacije nove molekule do njezina stavljanja na tržište može proteći 15 i više godina. Kad istraživači jednom završe divovski zadatak prosijavanja podataka

za identificiranje nove veze između svojih ciljeva i bolesti, tek trebaju pokazati da su njihove pretpostavke valjane. Najprije se to radi *in vitro*, na primjer u staničnim kulturama, a zatim na životinjskim modelima bolesti. Ako je pretpostavka valjana, istraživači prelaze na program medicinske kemije u potrazi za novim spojevima. Ako već postoje spojevi koji utječu na metu na željeni način, istraživači će provjeriti može li se postojeći lijek preusmjeriti prema novom cilju.

Preusmjeravanje bi trebao biti brži put do bolesnika, budući da su pretklinička i toksikološka istraživanja već obavljena, kao i studije na dobrovoljcima – to obično traje oko dvije godine. Naravno, pretpostavka se konačno mora potvrditi na pacijentima s bolešću koja je bila meta. Izostanak uspjeha u toj fazi nazvan je u žargonu “dolina smrti”, i to s dobrim razlogom, jer oko 50 % spojeva propada na tom stupnju. Nakon godina uloženi u istraživanja izgledi da lijek uspješno prijeđe cijeli put do tržišta manji su od 10 %.

Kaže se da svaki novi lijek industriju stoji preko 1 milijarde dolara, uglavnom zato što se tu ubrajaju i troškovi propalih projekata. U bilo kojoj drugoj industriji ta vrsta statistike ne bi bila prihvatljiva, ali suvremena farmaceutska industrija sve je manje održiva. Kako se to može promijeniti i kako industrija može postati uspješnija?

Kako umjetna inteligencija može preobraziti znanstvenu metodu a potom i farmaceutsku industriju

Procjenjuje se da prosječni akademski istraživač pročita 250 do 270 članaka godišnje. Budući da u svijetu ima preko 50 milijuna znanstvenih članaka, nijedan pojedinac ne može pročitati sve relevantne članke za svojega života. Osim toga, mnogo informacija zakopano je u tekstovima čiji naslovi i sažetci ne odaju njihovu prisutnost.

Povećanje količine informacija kojima istraživači mogu pristupiti mora dovesti do novih uvida u prirodu bolesti i popraviti njihovu sposobnost donošenja odluka. Upravo na tom području umjetna inteligencija i tehnologija strojnog učenja mogu ostvariti velik utjecaj omogućavajući da se sveukupno znanstveno znanje analizira brže i učinkovitije nego što je to do sada bilo moguće. U najnovijim algoritmima istraživači dobivaju alat kojim će asimilirati, korelirati i povezati sve te informacije da bi protumačili i strukturirali podatke. To omogućava istraživačima da brže izvuku relevantne informacije i postave dublja i šira pitanja svojim literaturnim izvorima. Ono također dopušta združivanje strukturiranih i nestrukturiranih podataka na zajednički format.

Ne samo da će to ubrzati proces traganja za novim metama, tj. ubrzati inovacije, nego će pomoći i da se biraju najvažnije mete, zbog čega se očekuje da će se time smanjiti i učestalost pogrešaka u kliničkom razvoju. Uz ogromne troškove povezane sa stavljanjem nekog lijeka na tržište, dvostruko ili višestruko smanjenje tog tereta imalo bi dramatične posljedice po ekonomičnost otkrivanja novih lijekova i njihov razvoj u cjelini.

Na primjer, mi u Benevolentu proveli smo istraživanje amiotrofne lateralne skleroze (ALS) pomoću umjetne inteligencije. Naša platforma umjetne inteligencije kadra je pregledati milijarde rečenica i odlomaka koji se nalaze u milijunima objavljenih znanstveno-istraživačkih članaka i sažetaka. Služeći se tim već postojećim podacima mogli smo uspostaviti izravne veze između podataka i organizirati ih kao “poznate činjenice”. Te poznate činjenice se analiziraju i među njima se uspostavljaju do tada neostvarene veze, što omogućava da se, uz poštivanje kriterija koje su osmislili

znanstvenici, formuliraju brojne moguće pretpostavke. Tako smo pomoću umjetne inteligencije generirali 200 hipoteza na osnovi velike količine podataka do kojih bi prije bilo teško doći na druge načine. Nakon što smo ih dalje obradili našim alatima – tj. provjerili *in silico* – preostalo je 20 novih hipoteza koje su presložene po prioritetu i predane na daljnja istraživanja. Kad je konačni broj hipoteza smanjen na pet, one su upućene istraživačima u akademskom laboratoriju s iskustvom u istraživanju ALS. Taj proces omogućio nam je da istražimo potencijal novih mehanizama djelovanja na bolest za nekoliko tjedana umjesto za nekoliko mjeseci ili godina. Od pet spojeva ispitanih *in vitro* jedan nije bio uspješan, ali preostala četiri jesu. Svi ispitivani lijekovi već su bili poznati za druge indikacije različite od ALS-a, stoga je ovaj rezultat otvorio mogućnost za njihovo preusmjeravanje. Daljnji rad na životinjskom modelu ALS je u tijeku.

Prihvatimo tehnologiju da bismo revolucionirali proces otkrivanja lijeka

Ima i drugih područja na kojima umjetna inteligencija i strojno učenje mogu snažno utjecati na procese istraživanja i razvoja. Bolji načini za predviđanje svojstava kemijskih spojeva, kako bi se smanjio broj spojeva koje treba sintetizirati, svakako su privlačna opcija. Ona će omogućiti razmatranje šireg kemijskog univerzuma i obogatiti “kemijsku paletu” dostupnu medicinskim kemičarima. Rudarenje genomskih, proteomskih i metaboličkih podataka u potrazi za boljim bioobilježivačima i zamjenskim obilježivačima učinkovitosti lijekova drugo je područje na kojemu istraživači počinju primjenjivati umjetnu inteligenciju i strojno učenje. Na primjer, vrijeme potrebno za analizu slika mozga dobivenih snimanjem radi dijagnosticiranja raka ili neuroloških bolesti može se znatno skratiti. Nadalje, analiza ishoda različitih događaja u stvarnom svijetu te podatci dobiveni zahvaljujući nosivim tehnologijama ili drugim sensorima također se obavljaju pomoću umjetne inteligencije i strojnog učenja.

Prediktivna toksikologija još je u povojima, ali već se očekuje da će iskoristiti pravi potencijal umjetne inteligencije kako bi čim ranije prepoznala moguće zdravstvene probleme povezane s razvojem raznih novih kemijskih spojeva. Konačno, pomoću te nove tehnologije može se provesti bolja stratifikacija pacijenata, što bi trebalo voditi do uspješnijih kliničkih ispitivanja, jer bi se odgovarajuća populacija pacijenata mogla bolje izabrati.

Tehnologija ipak ne može sve

Važno je napomenuti, međutim, da umjetna inteligencija nije panacea i da ne može napraviti znanstvene prodore sama od sebe. Ta tehnologija nije zamišljena da zamijeni znanstvenike, a ne bi to ni mogla. Ona je tu da poboljša uvid znanstvenika, koji i dalje ovisi o svojem znanju kako bi mogli postavljati pitanja za koja tehnologija dopušta da budu pitana i razumijevati odgovore na ta pitanja. S druge strane, ako ćemo stvarno preoblikovati proces otkrivanja i razvoja novih lijekova, umjetna inteligencija i strojno učenje moraju odigrati ključnu ulogu.

Bilo da pomažemo stvaranju novih antibiotika ili pak popravljamo opće zdravstveno stanje starijeg stanovništva, umjetna inteligencija i strojno učenje igrat će sve veću ulogu ne samo u istraživanju i razvoju farmaceutika nego i u svim vidovima zdravlja i blagostanja.