Projektowanie bezpiecznych kosmetyków metodami chemii komputerowej

Mgr inż. Natalia Buławska
Mgr inż. Mateusz Balicki

Kosmetyki od stuleci stosowane są przez ludzi w celu poprawy zdrowia i wyglądu skóry. Pierwotnie wykorzystywano substancje pochodzenia naturalnego. Obecnie liczba nowo syntetyzowanych związków, potencjalnych składników produktu kosmetycznego, błyskawicznie się zwiększa, a wraz z nią poszerza się „luka informacyjna", dotycząca całej gamy właściwości fizykochemicznych, a także możliwego szkodliwego działania. Zmienia się rodzaj i skład substancji wykorzystywanych w procesie produkcji, jednak konieczność zagwarantowania bezpieczeństwa konsumentów pozostaje niezmienna. Wynika ona m.in. z obowiązujących norm prawnych[1], które regulują proces wprowadzania nowego kosmetyku na rynek. Ocena bezpieczeństwa kosmetyku może zostać przeprowadzona za pomocą tradycyjnych metod eksperymentalnych, które są czasochłonne i kosztowne. Alternatywą dla metod tradycyjnych w obszarze projektowania nowych kosmetyków są metody chemii komputerowej, które bazują na wiedzy z wielu dziedzin nauk ścisłych i przyrodniczych. Szczególnie pomocna w kontekście projektowania nowych substancji jest metoda QSAR (ang. Quantitative Structure-Activity Relationship), która pozwala na przewidywanie toksyczności, mechanizmu działania czy właściwości fizykochemicznych nowych molekuł w oparciu o informacje dotyczące znanych, podobnych struktur chemicznych. Modele QSAR stanowią ciekawą i wiarygodną alternatywę dla tradycyjnych metod laboratoryjnych. Ich zalety to m.in.: krótszy czas prowadzenia badań, niższe koszty, wyeliminowanie z pracy szkodliwych rozpuszczalników, brak konieczności testowania preparatów na zwierzętach, możliwość jednoczesnego badania wielu substancji.

Opracowując formułę nowego kosmetyku, skupiamy się na funkcji, jaką ma pełnić (np. działanie nawilżające, oczyszczające) oraz bezpieczeństwie stosowania (brak działania drażniącego na skórę, odpowiednia czystość mikrobiologiczna i chemiczna). Jednak aby kosmetyk spełniał swoją funkcję, jego składniki muszą mieć odpowiednie właściwości. W przypadku środków powierzchniowo czynnych ważna będzie lipofilowość, a w kontekście konserwantów odpowiednia aktywność wobec bakterii, takich jak np. gronkowiec złocisty, czy grzybów. Dlatego też poszukiwanie składników formulacji o odpowiednich właściwościach jest kluczowym etapem opracowywania kosmetyków. Proces ten jest czasochłonny oraz kosztowny. Jednak zastosowanie metod chemii komputerowej pozwalających na przewidywanie właściwości fizykochemicznych oraz aktywności biologicznej substancji może znacznie przyspieszyć opracowanie nowej formuły. Zwłaszcza w kontekście oceny bezpieczeństwa przy wprowadzaniu na rynek Unii Europejskiej ze względu na zakaz testowania produktów kosmetycznych na zwierzętach.

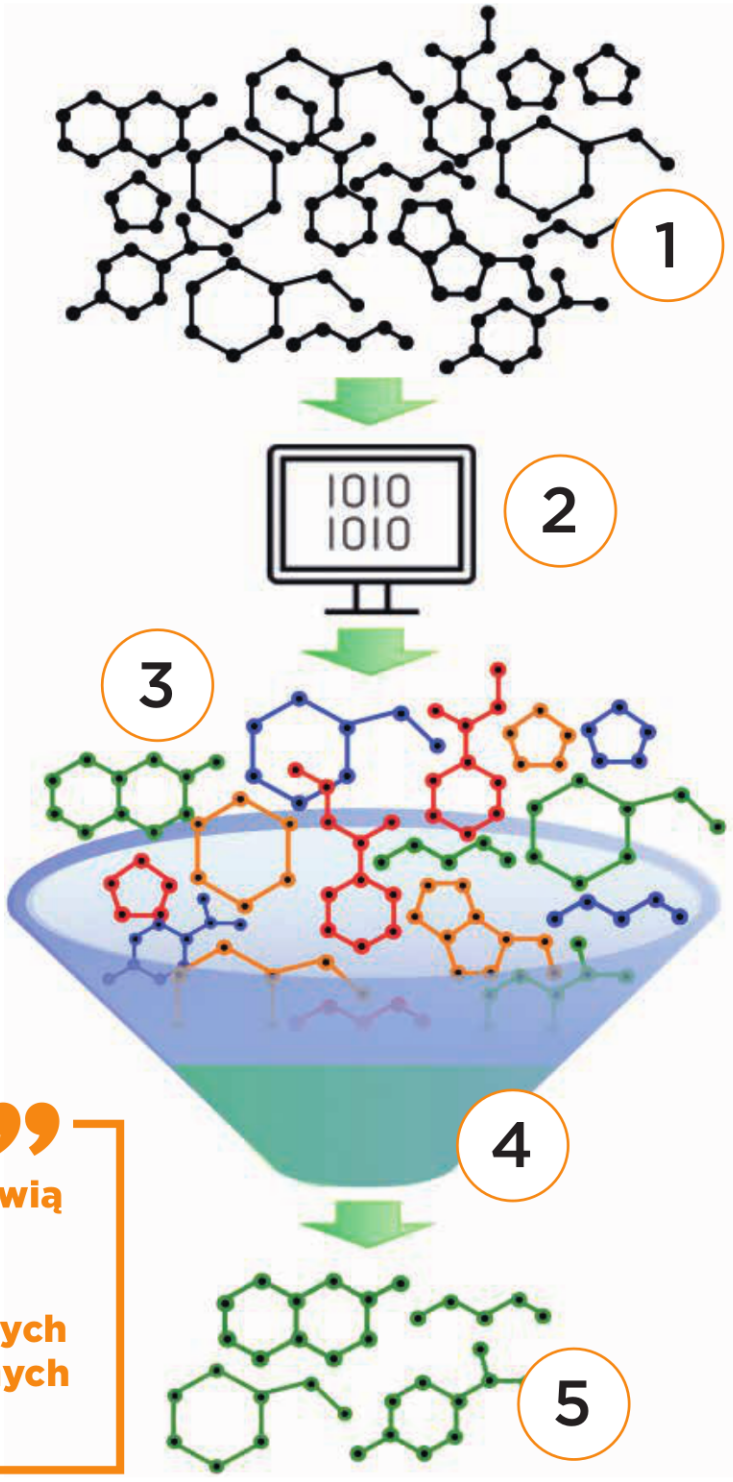
Poszukiwanie substancji o odpowiednich właściwościach przy pomocy metod komputerowych można podzielić na kilka etapów: wygenerowanie zbioru danych, tworzenie modelu QSAR dla przewidywania pożądanej właściwości, screening związków pod kątem tej właściwości oraz ocena bezpieczeństwa wytypowanych związków. Etapy te zostały dokładniej opisane w dalszej części artykułu.

1. Wygenerowanie zbioru danych

Początkowym etapem wszystkich obliczeń komputerowych jest stworzenie odpowiedniej biblioteki danych (zawierającej eksperymentalne wartości interesującej nas właściwości dla różnych związków, np. działanie przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, lipofilowość, aktywność wobec bakterii, działanie uczulające na skórę). Ten etap, choć wydaje się prozaiczny, w rzeczywistości jest jednym z najbardziej kluczowych etapów obliczeń. Trzeba wiedzieć, że model matematyczny może być co najwyżej tak dobry jak dane zebrane do jego utworzenia. Zbierane informacje dotyczące właściwości chemicznych, fizycznych czy toksyczności mogą pochodzić ze zgromadzonych już wcześniej opisów znanych związków, np. ekstraktów roślinnych. Zbiór danych dla metod QSAR powinien być możliwie duży.

2. Tworzenie modelu

Aby opracować model QSAR, należy rozdzielić bibliotekę danych na dwa podzbiory, tak zwany zbiór uczący i zbiór testowy. Zbiór uczący stanowi pewnego rodzaju „szkołę" dla naszego modelu – to na jego podstawie nasz model „uczy się" przewidywania wcześniej zdefiniowanych właściwości substancji. Zbiór walidacyjny (testowy) służy do oceny skuteczności modelu – przy pomocy tego zbioru sprawdza się możliwości predykcyjne skonstruowanego modelu. Następnie należy scharakteryzować budowę badanej grupy związków poprzez zdefiniowanie i obliczenie (za pomocą metod teoretycznych) odpowiednich deskryptorów struktury, które również posłużą do opracowania modelu. Kolejnym niezwykle istotnych etapem budowy modelu QSAR jest ocena jego wiarygodności poprzez przeprowadzenie walidacji otrzymanego modelu. Można wyróżnić dwa rodzaje walidacji: wewnętrzną i zewnętrzną. Walidacja wewnętrzna



Metody komputerowe stanowią alternatywę dla drogich i czasochłonnych badań eksperymentalnych związanych z projektowaniem bezpiecznych związków

opiera się o zbiór danych zebrany do utworzenia modelu i ma za zadanie ocenić, czy model jest stabilny, natomiast walidacja zewnętrzna wykorzystuje informacje o związkach spoza zbioru uczącego i ma na celu sprawdzenie zdolności prognostycznych modelu. Sam proces tworzenia i uczenia modelu oparty jest na algorytmach uczenia maszynowego (ang. *machine learning*), wykorzystywanych w coraz szerszej skali w przeróżnych dziedzinach nauki. Zgodnie z kryteriami jakościowymi OECD[2] poprawnie zbudowany, wysokiej jakości model QSAR powinien charakteryzować się:

- jasno zdefiniowaną modelowaną wielkością (ang. *endpoint*),
- przejrzystym algorytmem modelowania – tak aby możliwe było jego powtórzenie,
- precyzyjnie określoną dziedziną modelu (ang. *applicability domain*) – zbiór związków, dla którym opracowany model przewiduje poprawnie,
- odpowiednio użytymi i zinterpretowanymi parametrami świadczącymi o jego wysokiej jakości: jakość dopasowania (ang. *goodness-of-fit*), elastyczność (ang. *robustness*), zdolność przewidywania (ang. *predictivity*),

- interpretacją fizyczną użytej kombinacji deskryptorów, o ile to możliwe.

3. Screening związków o pożądanych właściwościach

Gdy model jest już opracowany i spełnia on w zadawalającym stopniu wszystkie parametry opisujące jego jakość, dopasowanie i zdolności prognostyczne, można za jego pomocą wyznaczyć wartości modelowanej właściwości dla szeregu nowych związków chemicznych, które mogą stanowić składniki przyszłych kosmetyków. Na tym etapie posiadamy jedynie duży zbiór związków o interesujących właściwościach (np. związków o dużej lipofilowości). Dopiero ocena tych substancji pod kątem ryzyka pozwoli wybrać kilka spośród tysięcy, które oprócz pożądanych właściwości będą również bezpieczne dla użytkownika końcowego produktu.

Wynikiem szacowania przekrojowego jest pozyskanie wiedzy na temat nowych, nieprzebadanych jeszcze substancji tylko na podstawie ich właściwości i budowy chemicznej

4. Ocena bezpieczeństwa wytypowanych związków

Produkt kosmetyczny, który zostaje dopuszczony do obrotu musi być bezpieczny dla zdrowia konsumenta. Dokumentem stanowiącym certyfikat bezpieczeństwa wyrobu jest *Raport Bezpieczeństwa Produktu Kosmetycznego*[1], w którym zawiera się m.in. profil toksykologiczny substancji. Szczególną uwagę zwraca się na ocenę toksyczności lokalnej – działanie drażniące na oczy i skórę, działanie uczulające na skórę czy bezpieczeństwo mikrobiologiczne.

W celu uzupełnienia raportu o dane toksykologiczne możliwe jest wykorzystanie metod *in silico* bazujących na podobieństwie związków. Zakładając, że związki podobne pod względem struktury mogą posiadać zbliżone właściwości, do oszacowania toksyczności badanego związku można wykorzystać już istniejące modele QSAR, które przewidują określoną toksyczność. Kiedy wyniki przewidywania modelem zawierają się w wyznaczonej dziedzinie modelu QSAR, przewidzianą wartość można traktować jako wiarygodną. Innymi metodami bazującymi na podobieństwie związków jest metoda grupowania lub szacowania przekrojowego (ang. *read-across*). Podobieństwo związków może być w tym wypadku określanie w różny sposób, m.in. (i) podobieństwo strukturalne, (ii) związki charakteryzujące się podobnych efektem toksycznym mogą zawierać określoną grupę funkcyjną, która za ten efekt odpowiada lub (iii) różne związki mogą mieć wspólne produkty rozpadu w wyniku podobnych procesów fizycznych i/lub biologicznych. Według wytycznych rozporządzenia REACH do jednej grupy/kategorii substancji można zaliczyć związki charakteryzujące się zbliżonymi właściwościami fizykochemicznymi, toksykologicznymi, ekotoksykologicznymi, a także o podobnej strukturze. Wynikiem szacowania przekrojowego jest pozyskanie wiedzy na temat nowych, nieprzebadanych jeszcze substancji tylko na podstawie ich właściwości i budowy chemicznej. Prawidłowe podejście do stosowania modeli QSAR oraz odpowiednio

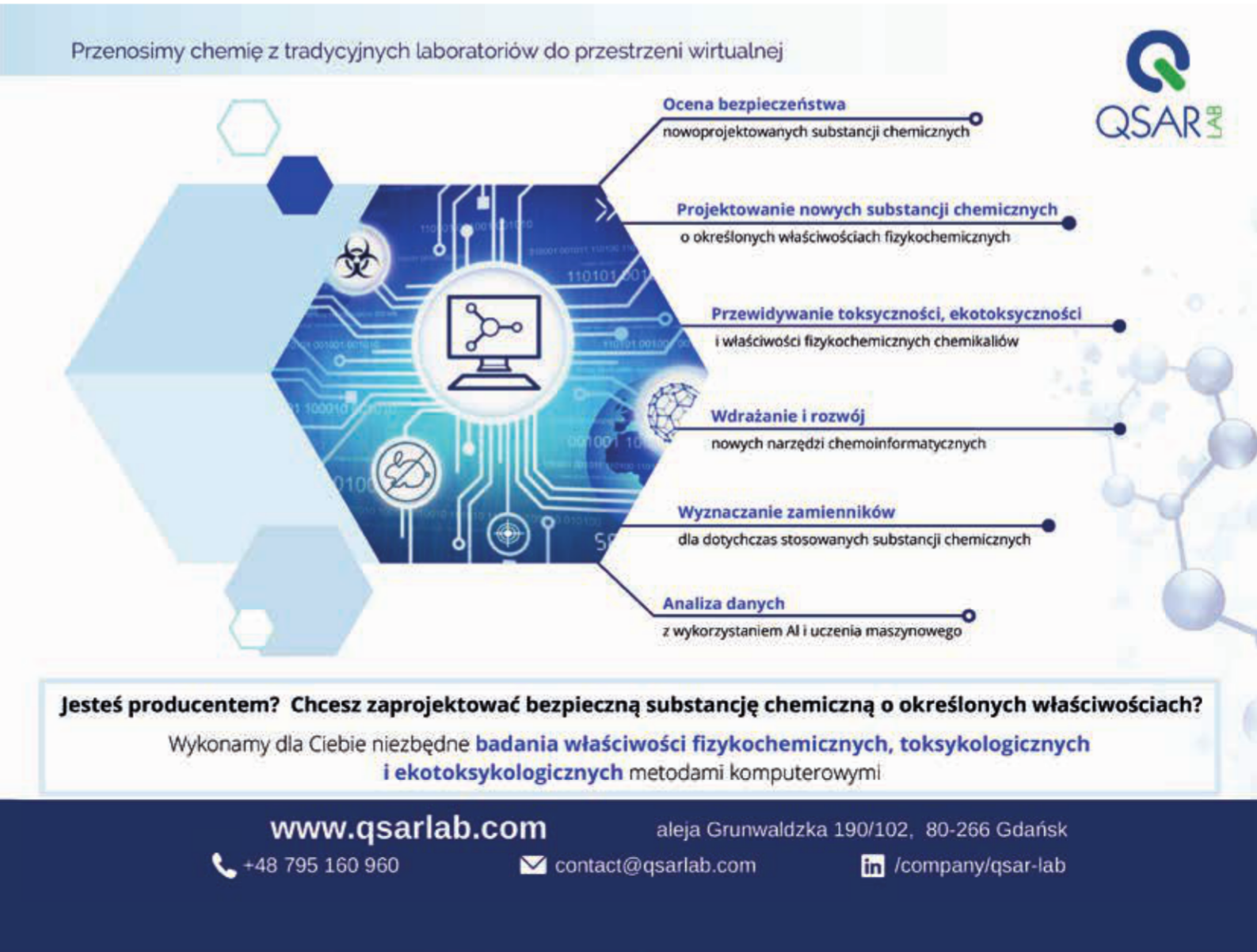
przeprowadzona analiza *read-across* pozwalają zmniejszyć liczbę wykonywanych doświadczeń ze względu na brak potrzeby badania każdej substancji docelowej. Metody te są obecnie zalecane na mocy rozporządzenia REACH.

5. Wytypowana grupa związków o pożądanych właściwościach – bezpieczna dla człowieka i środowiska

Szczegółowa analiza chemoinformatyczna i ocena ekspercka otrzymanych wyników pozwala wytypować związki spełniające nasze wymagania co do posiadanych właściwości, a jednocześnie bezpiecznych dla nas i środowiska. Związki te następnie mogą być użyte do dalszych badań eksperymentalnych i procesu tworzenia produktu kosmetycznego. Dzięki takiemu podejściu nie jest konieczne wykonywanie dużej liczby kosztownych badań toksykologicznych.

Metody komputerowe stanowią alternatywę dla drogich i czasochłonnych badań eksperymentalnych związanych z projektowaniem bezpiecznych związków (w tym produktów kosmetycznych). Zastosowanie technik *in silico* pozwala analizować duży wyjściowy zestaw związków, jak i rozpatrywać wiele właściwości substancji jednocześnie, co efektywnie zawęża i precyzuje wybór związków. Ograniczenie liczby substancji, które poddaje się dalszym badaniom eksperymentalnym pozwala na oszczędność czasu, zużycie mniejszej liczby składników czy rozpuszczalników organicznych do analizy. Z tym wiążą się również niższe koszty prowadzenia projektów, mniejsza szkoda dla środowiska naturalnego oraz to, że metody te wpisują się idealnie w potrzebę ograniczenia testów na organizmach żywych. Ze względu na szereg zalet metody chemii komputerowej mają ogromny potencjał, aby wspomagać rozwój przemysłu chemicznego. Opracowywanie nowych modeli oraz tworzenie baz danych poszerzanych przez dodatek nowych związków wciąż jest wyzwaniem dla naukowców zmagających się z tym zagadnieniem. ■

Literatura:

1. Parlament Europejski. ROZPORZĄDZENIE PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY (WE) NR 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. dotyczące produktów kosmetycznych (Dziennik urzędowy Unii Europejskiej 2009; 2009 (1223).
2. Guidance Document on the Validation of (Quantitative)Structure-Activity Relationship (Q)SAR Models; OECD Series on Testing and Assessment 2007.

Reklama