

REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS GUIADO POR MODELO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL NA OSTEOPOROSE

¹Aridênio Dayvid da Silva; ¹Giovanna Azevedo Sousa; ¹Vinicius Silva Alves; ¹Adriassia Jeovana Pereira Almeida dos Santos; ¹João Gabriel Marques Brayner, ²Helyson Lucas Bezerra Braz.

¹ Graduando em Medicina pela Universidade Federal do Ceará – UFC *Campus* Sobral; ² Pós-Graduando em Ciências Morfofuncionais – Departamento de Morfologia – Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Ceará.

Área temática: Biotecnologia e Inovação em Saúde

Modalidade: Comunicação Oral

E-mail do autor: aridenio.dsilva@gmail.com

RESUMO

INTRODUÇÃO: A osteoporose representa a doença óssea mais comum em todo o mundo, sendo caracterizada por risco aumentado de fraturas, elevando as taxas de morbimortalidade. A ocorrência de efeitos colaterais da terapêutica farmacológica usada para mitigar os danos potenciais da osteoporose limita o uso desses agentes, estimulando a pesquisa de novos compostos. A catepsina K (CatK), proteína expressa pelos osteoclastos cuja inibição aumenta a massa óssea, apresenta-se como uma via para o desenvolvimento de novos tratamentos. **OBJETIVO:** Este estudo teve como objetivo desenvolver um modelo de inteligência artificial de busca de moléculas potenciais para o tratamento da osteoporose através da identificação de fármacos já aprovados no mercado ou moléculas testadas em ensaios biológicos que tenham como mecanismo de ação a inibição da CatK. **MÉTODOS:** O modelo de *machine learning* foi desenvolvido na plataforma *Google Colab* em linguagem *Python3*. As bibliotecas ChEMBL, pandas, numpy e rdkit foram utilizadas para a execução deste modelo. Foi usado o critério de avaliação com base no modelo *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR). O teste de docking molecular foi utilizado para confirmação da ligação das possíveis moléculas descobertas no sistema de inteligência artificial com o alvo CatK. Foi utilizado o recurso computacional Autodock Vina 1.2. ANOVA *one-way* seguido de Tukey que foi utilizado para análise dos resultados. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Foram encontrados 3 inibidores em potencial, sendo um já relatado na literatura e dois novos ainda não referenciados, que apresentaram maior afinidade molecular com a CatK do que o composto já conhecido, o que demonstra o potencial de novos inibidores da Catk no tratamento da osteoporose. **CONCLUSÃO:** Demonstrou-se o efeito de interação de 3 estruturas agonistas descobertas e redirecionadas por inteligência artificial com potencial de atividade na proteína CatK. Os dados deste estudo poderão ser usados na prospecção de fármacos para o tratamento de doenças ósseas.

Palavras-chave: Osteoporose, Antirreabsortivos, Docking.

1. INTRODUÇÃO

A osteoporose representa a doença óssea mais comum em todo o mundo, afetando homens e mulheres idosos de todas as origens étnicas, sendo caracterizada por baixa densidade óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, com o consequente aumento no risco de fraturas, elevando as taxas de morbimortalidade (ANAM AND INSOGNA, 2021). Essas características da doença impactam diretamente na qualidade de vida dos pacientes e nos serviços de saúde.

Uma vez diagnosticada, as consequências potenciais da osteoporose podem ser mitigadas por medidas não farmacológicas (ingestão adequada de proteínas, cálcio e vitamina D, prática regular de exercícios), juntamente com medidas farmacológicas (suplemento de cálcio e vitamina D, bisfosfonatos, imunobiológicos, moduladores do receptor de estrogênio e agonistas do receptor do paratormônio-1). No entanto, a ocorrência de efeitos colaterais, como fraturas e eventos cardiovasculares, limita o uso desses agentes. Desta forma, esse cenário representa um terreno fértil para a prospecção de novos compostos.

A catepsina K (CatK), uma cisteína-protease, é expressa pelos osteoclastos e degrada o colágeno tipo I, principal componente da matriz óssea orgânica. Estudos pré-clínicos demonstraram que a inibição de CatK aumenta a massa óssea, melhora a microarquitetura e a força óssea (DUONG ET AL., 2015). Contudo, um estudo multinacional randomizado, duplo-cego de fase III de um inibidor da CatK (odanacatibe) em mulheres na pós-menopausa com osteoporose revelou que seu uso estava associado ao risco aumentado de acidentes vasculares cerebrais (MCCLUNG ET AL., 2019). No entanto, considerando que a biologia subjacente e os efeitos clínicos da inibição da CatK podem orientar futuras abordagens terapêuticas para a osteoporose, (DRAKE ET AL., 2017), o reposicionamento de fármacos pode representar uma estratégia interessante para superar essas questões. De fato, o reposicionamento de fármacos busca encontrar novos usos para medicamentos existentes, o que pode acelerar o desenvolvimento de novos medicamentos com perfis de segurança conhecidos para novas populações de pacientes (PARVATHANENI ET AL., 2019).

Métodos computacionais são capazes de prever novas associações de drogas-doença para reposicionamento de drogas com base em medidas de similaridade entre moléculas e processos biológicos. Dentre esses métodos, os ensaios *in silico* podem ser mencionados como um dos exemplos de recursos computacionais usados para o redirecionamento de fármacos e moléculas potenciais.

Nesse estudo buscou-se identificar, por meio de acesso a dados moleculares, fármacos já aprovados no mercado ou moléculas testadas em ensaios biológicos que possam ter como mecanismo de ação a inibição de CatK. Assim, esse estudo tem como objetivo desenvolver e testar um novo modelo de inteligência artificial de busca de moléculas potenciais para o tratamento da osteoporose.

2. OBJETIVO

Este estudo teve como objetivo desenvolver um modelo de inteligência artificial de busca de moléculas potenciais para o tratamento da osteoporose através da identificação de fármacos já aprovados no mercado ou moléculas testadas em ensaios biológicos que tenham como mecanismo de ação a inibição de CatK.

3. MÉTODO

2.1. Desenvolvimento do modelo de Inteligência Artificial

O modelo de *machine learning* foi desenvolvido na plataforma *Google Colab* (<https://colab.research.google.com>) em linguagem de programação *Python3*. As bibliotecas ChEMBL, pandas, numpy e rdkit foram utilizadas para a execução deste modelo. O critério principal de avaliação foi realizado com base no modelo *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR) dos inibidores baseado nos valores de concentração inibitória média (IC₅₀) das moléculas presentes no ChEMBL perante a estrutura da proteína CatK. Após a importação dos dados, houve uma classificação de inibição (ativo < 1000 nM ou inativo > 1000 nM) e triagem dos inibidores pelo seu valor de % de atividade, % de inibição e EC₅₀. Os dados finais passaram pela avaliação de Lipinski (2004) para avaliação de biodisponibilidade oral e acessibilidade sintética.

2.2. Docking Molecular

O teste de docking molecular foi utilizado para confirmação da ligação das possíveis moléculas descobertas no sistema de inteligência artificial com o alvo CatK. Foi utilizado o recurso computacional Autodock Vina 1.2 (EBERHARDT ET AL., 2021) para execução dos cálculos de interação de afinidade molecular baseado na metodologia de BRAZ *et al* (2020). O método foi repetido 3 vezes por diferentes tipos de comando. Os critérios de afinidade de ligação e interações entre resíduos (Interações de hidrogênio e hidrofóbicas) foram usados para determinar as melhores

interações moleculares. O método de ANOVA *one-way* seguido do teste de Tukey que foi utilizado na avaliação estatística dos resultados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira fase do modelo detectou 5 mil possíveis inibidores que apresentaram relação estrutura-atividade com a estrutura de CatK. A etapa seguinte foi programada para aceitar apenas os dados de IC₅₀ abaixo de 100 nM, totalizando apenas 40 estruturas. Na terceira etapa, uma classificação foi realizada para selecionar as 10 estruturas com os menores IC₅₀. Na última etapa foi realizado a avaliação de biodisponibilidade oral pela regra de Lipinski, uma técnica que estabelece a qualidade de um novo fármaco pelos 4 parâmetros múltiplos de 5: log P maior ou igual a 5, Massa Molecular menor ou igual a 500, aceptores de ligação de Hidrogênio menor ou igual a 10 e doadores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 5 (CHAGAS ET AL., 2018). Assim, obteve-se três moléculas, a estrutura CHEMBL115734, que em outros estudos foi inicialmente sintetizada para uso como inibidor de cisteína-proteases (ZHOU ET AL., 2002); a molécula CHEMBL4851995, que tem ação seletiva em na enzima N-Aciletanolamina Amidase (MALAMAS *et al.*, 2021) e a estrutura CHEMBL77665, cientificamente denominada arilaminoetilamida, uma estrutura com atividade conhecida com a CatK (ALTMANN *et al.*, 2002), de modo que esta estrutura foi usada como controle neste estudo. Além disso, todas as estruturas (**Tabela 1**) apresentaram um IC₅₀ menor que 1 nM, dado esse que é considerado como moléculas de forte efeito e interação de alta afinidade (ARMUTLU ET AL., 2008). **Tabela 1:** Resultado final da triagem pelo modelo computacional exibindo ID, código de rastreio estrutural SMILES, IC₅₀ e classe da bioatividade.

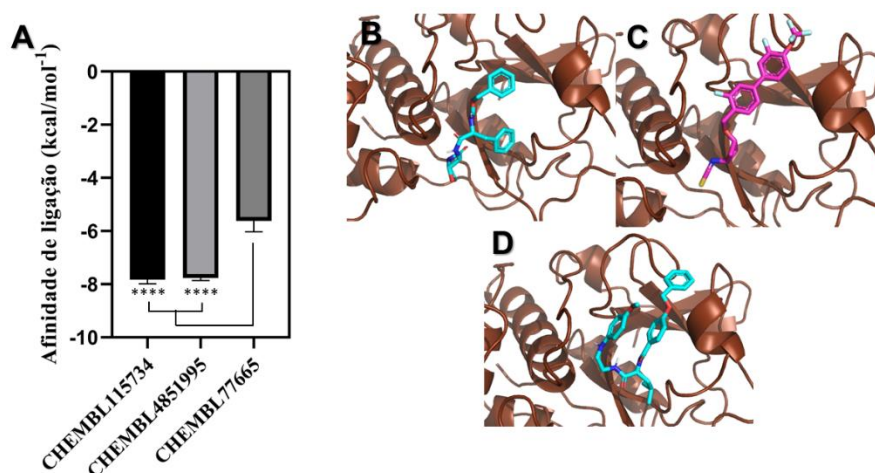
ID ChEMBL	Código SMILES	IC ₅₀ (nM)	Classe bioativa
CHEMBL115734	<chem>O=C(N[C@@H](Cc1ccccc1)C(=O)N[C@@H]1C(=O)N2CCO[C@H]12)OCc1ccccc1</chem>	0,004	Ativa
CHEMBL4851995	<chem>Fc1cc(-c2ccc(OC(F)(F)F)c(F)c2)ccc1CO[C@H]1C[C@H](N=C=S)C1</chem>	0,056	Ativa
CHEMBL77665	<chem>COc1ccc(NCCNC(=O)[C@H](CC(C)C)NC(=O)c2ccc(OCc3ccccc3)cc2)cc1</chem>	0,032	Ativa

Fonte: autoria própria.

No resultado de afinidade de ligação do docking molecular (**Figura 1A**) foi visto que a estrutura CHEMBL115734 apresentou valor de $-7,93 \pm 0,25$ kcal/mol⁻¹ e diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) em relação ao grupo controle. A estrutura CHEMBL4851995 apresentou

uma afinidade de $-7,87 \pm 0,19$ kcal/mol⁻¹ com diferença significativa ($p < 0,0001$). Já a estrutura CHEMBL77665 já evidenciada na literatura como inibidor da CatK obteve um valor de interação inferior de $-5,82 \pm 0,15$ kcal/mol⁻¹, exibindo que as estruturas CHEMBL115734 e CHEMBL4851995 apresentaram uma afinidade molecular mais forte que a estrutura com interação conhecida. Na figura 1B, 1C, 1D é possível ver os encaixes tridimensionais das estruturas CHEMBL115734, CHEMBL4851995 e CHEMBL77665 respectivamente, na estrutura da proteína CatK.

Figura 1: Resultado do docking molecular entre os ligantes detectados por inteligência artificial e a proteína CatK. (A) Gráfico de afinidade de ligação. (B) interação de CHEMBL115734, (C) CHEMBL4851995, (D) CHEMBL77665.



Fonte: autoria própria.

5. CONCLUSÃO

Com base neste estudo, foi possível demonstrar o efeito de interação de 3 estruturas agonistas descobertas e redirecionadas por inteligência artificial com potencial de atividade na proteína CatK, proteína de grande importância envolvida na osteoporose. O conhecimento obtido com este estudo poderá ser usado como uma importante ferramenta farmacológica para outras doenças.

6. REFERÊNCIAS

- ¹ANAM AK, Insogna K. **Update on Osteoporosis Screening and Management**. Med Clin North Am. 105(6):1117-1134; Nov 2021.
- ²ALTMANN, E., RENAUD, J., GREEN, J., FARLEY, D., CUTTING, B., & JAHNKE, W. **Arylaminoethyl amides as novel non-covalent cathepsin K inhibitors**. Journal of medicinal chemistry, 45(12), 2352–2354, 2002.

- ³ ARMUTLU, P., OZDEMIR, M. E., UNEY-YUKSEKTEPE, F., KAVAKLI, I. H., & TURKAY, M. **Classification of drug molecules considering their IC₅₀ values using mixed-integer linear programming based hyper-boxes method.** BMC bioinformatics, v. 9, n. 411, 2008.
- ⁴ BRAZ, H., SILVEIRA, J., MARINHO, A. D., DE MORAES, M., MORAES FILHO, M. O., MONTEIRO, H., & JORGE, R. **In silico study of azithromycin, chloroquine and hydroxychloroquine and their potential mechanisms of action against SARS-CoV-2 infection.** International journal of antimicrobial agents, v. 56, n. 3, p. 106119, 2020.
- ⁵ CHAGAS, C. M.; MOSS, S.; ALISARAIE, L. **Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five.** Int J Pharm, v. 549(1-2), p. 133-149, 2018.
- ⁶ DRAKE M.T, CLARKE B.L, OURSLER M. J, KHOSLA S. **Cathepsin K Inhibitors for Osteoporosis: Biology, Potential Clinical Utility, and Lessons Learned.** Endocr Rev. 1;38(4):325-350; Aug 2017.
- ⁷ DUONG LE T, LEUNG AT, LANGDAHL B. **Cathepsin K Inhibition: A New Mechanism for the Treatment of Osteoporosis.** Calcif Tissue Int.;98(4):381-97; Apr 2016.
- ⁸ EBERHARDT, J., SANTOS-MARTINS, D., TILLACK, A.F., FORLI, S. **AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings.** Journal of Chemical Information and Modeling, 2021.
- ⁹ MCCLUNG MR and LOFT Investigators. **Odanacatib for the treatment of postmenopausal osteoporosis: results of the LOFT multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial and LOFT Extension study.** Lancet Diabetes Endocrinol.;7(12):899-911; Dec 2019.
- ¹⁰ PARVATHANENI V, KULKARNI NS, MUTH A, GUPTA V. **Drug repurposing: a promising tool to accelerate the drug discovery process.** Drug Discov Today.;24(10):2076-2085; Oct 2019.
- ¹¹ LIPINSKI, Christopher A. **Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution.** Drug discovery today. Technologies vol. 1,4: 337-41; 2004.
- ¹² MALAMAS, M. S., et al. **Design and Structure-Activity Relationships of Isothiocyanates as Potent and Selective N-Acylethanolamine-Hydrolyzing Acid Amidase Inhibitors.** Journal of medicinal chemistry, 64(9), 5956–5972, 2021.
- ¹³ ZHOU, N. E., GUO, D., KALETA, J., PURISIMA, E., MENARD, R., MICETICH, R. G., & SINGH, R. **Design and synthesis of 6-substituted amino-4-oxa-1-azabicyclo[3,2,0]heptan-7-one derivatives as cysteine proteases inhibitors.** Bioorganic & medicinal chemistry letters, 12(23), 3413–3415, 2002.