

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"VICTOR BABEȘ" DIN TIMIȘOARA
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL FARMACIE**



**REȚELELE COMPLEXE CA FUNDAMENT
INTEGRATIV ÎN FARMACOLOGIA DE SISTEM:
REPOZIȚIONAREA MEDICAMENTELOR ȘI
IMPLICAȚII CLINICE**

REZUMAT

Șef de lucrări Dr. Udrescu-Milosav Lucreția Paula

**Timișoara
2021**

Teza de abilitare cu titlul *Complex Networks as an Integrative Framework in Systems Pharmacology: Drug Repositioning and Clinical Implications* prezintă pe scurt realizările științifice, academice și profesionale personale în perioada postdoctorală (2015-2021), precum și principalele direcții de dezvoltare – atât în planul cercetării științifice, cât și în plan academic. Articolele științifice publicate au adus contribuții în (i) optimizarea proprietăților biofarmaceutice ale substanțelor medicamentoase prin complecși de incluziune cu ciclodextrine, (ii) modelarea interacțiunii moleculare de tip host-guest (i.e., medicament-ciclodextrină) și medicament-target biologic, și (iii) aplicarea rețelelor complexe în științele farmaceutice (pentru re poziționarea medicamentelor, prin analiza rețelor complexe ale interacțiunilor medicamentoase și medicament-target biologic) și medicale (pentru fenotipare, predicția severității și a răspunsului la tratamentul cu presiune pozitivă continuă în căile aeriene a pacienților cu sindrom apneic).

Primul capitol este dedicat realizărilor științifice și prezintă, în primul subcapitol, motivația cercetării și cele mai importante lucrări publicate (articole indexate ISI, capitole de carte, lucrări publicate la conferințe in extenso și ca rezumat) și participări în proiecte de cercetare științifică. Astfel, conform Clarivate Web of Science Core Collection (aprilie 2021), activitatea științifică are un impact caracterizat printr-un indice Hirsch 8 și un număr total de 129 citări ISI (95 fără autocitări). În calitate de autor principal am publicat 10 articole științifice indexate ISI, cu factor de impact cuprins între 0.538 și 4.259, dintre care 4 în zona roșie (Q1) și 2 în zona galbenă (Q2), cu un factor de impact cumulat de 21.994. În calitate de coautor, am publicat 10 articole indexate ISI cu factor de impact cuprins între 0.538 și 2.776, dintre care 2 în zona galbenă (Q2). De asemenea, am fost implicată în 4 proiecte de cercetare: două proiecte internaționale, un proiect național și un proiect intern al Universității de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara. Dintre acestea, două proiecte sunt în plină derulare; sunt directorul proiectului experimental demonstrativ "Complexity science for precision pharmacy: predicting relevant drug interactions using complex network analysis" – HYPERION, câștigat în competiția UEFISCDI PN-III-P2-2.1-PED-2019 (2020-2022), a cărui perioadă de derulare este noiembrie 2020 – octombrie 2022 și asistent manager și cercetător în proiectul "Revolution of sleep diagnostics and personalized health care based on digital diagnostics and therapeutics with health data integration" – SLEEP REVOLUTION, ID 965417, în competiția europeană HORIZON 2020 (2021-2025). De asemenea, am fost membru în proiectul "Morpheus: a screening and monitoring system for sleep apnea syndrome", finanțat de LINDE Healthcare REAL Fund Project nr. 11289/ 14.10.2014 (2014-2016) și în proiectul intern U.M.F. "Victor Babeș" Timișoara "Sinteza unor compuși cu potențială activitate antitumorală prin reacții de derivatizare și caracterizarea acestora prin tehnici hifenate. Evaluarea activității antiangiogenice, antineoplazice și antiinflamatoare" – SYNTANTITUM III-C1-PCFI-2014/2015

Următorul subcapitol prezintă metodele prin care am îmbunătățit proprietățile biofarmaceutice ale unor substanțe medicamentoase din clasa inhibitorilor enzimei de

conversie a angiotensinei I – fosinopril și zofenopril – prin formarea de complecși de incluziune cu ciclodextrine. Numeroase noi molecule ale substanțelor medicamentoase prezintă un profil de solubilitate nesatisfăcător ce conduce la o biodisponibilitate redusă. Pentru această categorie de substanțe medicamentoase, o metodă de "recuperare" este formarea de complecși de incluziune cu substanțe macromoleculare cavitare biocompatibile, în special cu ciclodextrine. Particularitățile structurale ale ciclodextrinelor (cavitate hidrofobă – capabilă să acomodeze molecule oaspete lipofile – și suprafață exterioară hidrofilă) le-a transformat în vectori ai creșterii solubilității multor substanțe medicamentoase în mediul biologic și au contribuit astfel la creșterea biodisponibilității orale și reducerea variabilității individuale a acestui parametru biofarmaceutic. Obținerea de complecși de incluziune ale acestor două substanțe medicamentoase cu ciclodextrine este fezabilă deoarece crește solubilitatea apoasă, îmbunătățind astfel biodisponibilitatea orală și crescând stabilitatea în prezența excipienților (în cazul fosinoprilului), respectiv evită variabilitatea absorbției orale, crește stabilitatea față de oxidare, responsabilă de descompunerea prematură și de reducerea efectului farmacologic (în cazul zofenoprilului). Am analizat proprietățile fizico-chimice ale substanțelor pure și sistemelor lor binare (amestec fizic și complex preparat prin metoda pastei) prin aplicarea unor metode instrumentale specifice, precum spectrofotometria UV, FTIR/ATR-FTIR, difracția de raze X, analiza termică, pentru a putea pune în evidență formarea unei noi faze reprezentată de complexul de incluziune. Rezultatele experimentale au dovedit formarea unor complecși reali de incluziune între fosinopril și β -ciclodextrină, zofenopril și doi derivați de β -ciclodextrină (2-hidroxipropil β -ciclodextrină și β -ciclodextrină metilată aleatoriu). Modelarea moleculară a interacțiunii fosinopril- β -ciclodextrină confirmă rezultatele FTIR privind formarea unui complex real de incluziune între cele două componente. Metoda pastei aplicată pentru prepararea tuturor acestor complecși este o tehnică simplă ce oferă o creștere considerabilă a solubilității apoase a substanțelor medicamentoase incluse, ceea ce permite condiționarea acestor complecși în forme farmaceutice orale care prin care să se depășească inconvenientele amintite anterior.

Al treilea subcapitol abordează tema aplicării noii științe a rețelelor complexe în farmacie, farmacologie și medicină. Folosind instrumentele rețelelor complexe, am construit un graf bipartit, i.e., conținând două categorii de noduri – mai exact noduri ce corespund ciclodextrinelor (13 ciclodextrine) – respectiv noduri ce corespund substanțelor incluse (190 substanțe oaspete). O legătură între două noduri se stabilește atunci când o substanță medicamentoasă este inclusă într-o ciclodextrină; rețeaua conține 367 de legături. Analiza distribuției de grad relevă că rețeaua complexă este de tip scale-free, distribuția fiind de tip power-law. Aceste rezultate indică existența unui tipar specific al relației ciclodextrină-substanță inclusă, care poate fi – eventual – corelat cu structura acestor substanțe. Această corelație poate fi exploatată pentru predicția modului în care o ciclodextrină include sau nu o substanță medicamentoasă pentru care nu s-au realizat experimente de laborator în acest scop. Un alt demers îl reprezintă construirea

inclusome-ului, o rețea complexă ce caracterizează proprietățile substanțelor incluse în ciclodextrine; inclusome-ul este un graf bipartit, în care legăturile (nedirecționate) se stabilesc între o ciclodextrină și o substanță oaspete atunci când acestea formează un complex de incluziune caracterizat prin o valoare optimă pentru parametrul $K_{1:1}$ ($200 \text{ M}^{-1} \leq K_{1:1} \leq 5000 \text{ M}^{-1}$). În această rețea, β -ciclodextrina și hidroxipropil β -ciclodextrina sunt concentratoare de legături (hub-uri), urmate de γ -, α - și metil β -ciclodextrina, ceea ce confirmă ordinea importanței utilizării lor în practica farmaceutică. Abordarea monopartită a inclusome-ului este reprezentată de rețeaua complexă a substanțelor medicamentoase incluse în ciclodextrine, o legătură între două noduri-substanță oaspete stabilindu-se dacă acestea sunt incluse în aceeași ciclodextrină cu același nivel al tăriei legăturii. Inclusome-ul obținut nu este de tip scale free, ci small-world, iar pentru substanțele acomodate de trei dintre cele mai utilizate ciclodextrine s-au agregat foarte clar câte trei subcomunități, care reflectă clasificarea în cele trei categorii de constante de stabilitate (i.e., prea slabă, optimă și prea puternică). În final, rețeaua bazată pe similaritatea structurală a moleculelor oaspete, construită pe baza a șase descriptori moleculari PaDel selectați cu un algoritm genetic, conține cinci comunități topologice, dintre care patru sunt bine delimitate, iar una este mai rarefiată. Agregarea nodurilor în comunități respectă o relație de similaritate structurală a substanțelor oaspete, reflectată de cei 6 descriptori, ceea ce conduce la identificarea relației dintre structura chimică a substanței oaspete și formarea complexului de incluziune cu o anumită ciclodextrină. Analiza rețelei complexe de similaritate a substanțelor oaspete permite extragerea unor proprietăți structurale potențial relevante în procesul de incluziune într-o ciclodextrină dată. Știința rețelelor se poate aplica pentru analiza procesului de formare de complecși de incluziune între ciclodextrine și substanțele medicamentoase. Într-adevăr, știința rețelelor și-a găsit aplicații în domeniul medical, iar în ultimii ani a apărut o nouă direcție de cercetare, numită network pharmacology, care studiază proprietățile farmacologice ale substanțelor medicamentoase cu ajutorul științei rețelelor. Am folosit instrumentele specifice rețelelor complexe pentru predicția de noi proprietăți farmacodinamice pentru medicamente care se află deja în practica medicală curentă. Această nouă metodologie se numește repoziționare și scurtează considerabil timpul și costurile descoperirii unui nou medicament, deoarece etapele preliminare sunt deja parcurse și cunoscute. Astfel, am construit două tipuri de rețele folosind o tehnică specifică rețelelor sociale, ce combină algoritmul Force Atlas 2 care plasează nodurile în rețea în funcție de interacțiunile forțelor gravitaționale ale nodurilor (generând comunități topologice) cu modularitatea (prin care sunt alocate culori nodurilor din rețea). Cele două rețele complexe sunt (i) rețeaua complexă a interacțiunilor medicamentoase bazată pe comunități (CBDDIN) și (ii) rețeaua complexă a similarității medicamentelor în funcție de acțiunea asupra unui target biologic (DDSN). În CBDDIN am identificat nouă comunități topologice, cărora le-am atribuit proprietăți farmacologice relevante majorității nodurilor-medicament. Validarea prin consultarea literaturii și altor baze de date confirmă proprietățile prezise pentru 85% dintre

medicamente, considerând repoziționabile restul de 15% dintre medicamente, care par să nu se supună etichetei comunității din care fac parte. De asemenea, prin utilizarea centralităților rețelei CBDDIN, putem clasifica medicamentele în funcție de potențialul lor de interacțiune, atunci când sunt incluse în diverse scheme de tratament medicamentos. În DDSN am identificat 26 de comunități topologice cărora le-am asociat proprietăți specifice, dominante ale medicamentelor; proprietățile farmacologice sunt corect prezise pentru 86.51% dintre medicamente, iar restul de 13.49% de medicamente ce inițial par să nu se potrivească cu proprietatea farmacologică dominantă a comunității din care fac parte sunt considerate potențiale repoziționări. Moleculele candidat pentru repoziționare, generate de orice metodologie in silico, trebuie în continuare prioritizate și testate in silico (e.g., prin modelare moleculară), in vitro și in vivo pentru noul efect farmacologic/farmacodinamic. Am prioritizat moleculele candidat pe baza raportului betweenness/degree. Pentru simularea interacțiunii cu targeturi biologice prin molecular docking am selectat acidul azelaic (ca potențial medicament anticanceros) și meprobamatul (ca potențial antifungic). Rezultatele dockingului arată că interacțiunile celor două substanțe cu targeturile selectate sunt similare cu cele ale unor substanțe de referință, cu acțiune cunoscută asupra targeturilor alese. De asemenea, am validat metodologia de docking prin simularea interacțiunii între medicamente despre care nu există date referitoare la interacțiunile cu targeturile biologice selectate. Rezultatele înregistrate sunt promițătoare și propun verificarea noilor efecte farmacodinamice prin teste in vitro și in vivo.

De asemenea, ultimul subcapitol este dedicat prezentării principalelor realizări științifice înregistrate prin aplicarea științei rețelelor în medicina respiratorie. Cu ajutorul instrumentelor specifice rețelelor complexe, am analizat o bază mare de date despre bolnavi cu sindromul de apnee obstructivă în somn (OSA). Astfel, principalele contribuții în acest sens sunt reprezentate de fenotiparea pacienților cu OSA și obținerea unui scor de predicție al riscului de OSA cu specificitate ridicată (i.e., SASScore – <http://sasscore.appspot.com>) pe baza factorilor de risc ai bolii, scor util în screeningul bolii în populații mari de pacienți. Acest scor poate fi rapid și ușor calculat și cu ajutorul aplicației dezvoltate pentru telefon mobil (<https://play.google.com/store/apps/details?id=aerscore.topindustries.aerscore&hl=en>). Deoarece grosimea gâtului este un indicator al OSA, am aplicat o metodologie bazată pe rețele complexe pentru a identifica tiparele de răspuns la tratamentul cu CPAP (presiune pozitivă continuă în căile aeriene) asociind grupurile de risc de apnee cu fiecare tipar de răspuns la tratamentul cu CPAP și urmărind obținerea unei valori prag a grosimii gâtului de la care tratamentul cu CPAP este eficient. Astfel, această valoare de prag este de 41 cm, însemnând că toți pacienții cu grosimea gâtului mai mare de 41 cm sunt încadrați în clasa cu cel mai bun răspuns la tratamentul cu CPAP. Fenotiparea pacienților OSA în funcție de sex folosind instrumentele rețelelor complexe evidențiază câte opt comunități/fenotipuri specifice de pacienți pentru femei și bărbați, corelează fenotipurile

cu comorbiditățile, subliniază diferențele de gen și definește tiparele caracteristice de dezvoltare a OSA.

Următoarele două capitole prezintă cele mai importante realizări academice și profesionale de la absolvirea facultății de Medicină, specializarea Farmacie a Universității de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" din Timișoara până în prezent, precum și elemente de recunoaștere a activității profesionale, reflectată prin citări în reviste științifice de mare impact, activitatea de reviewer la jurnale științifice din grupuri editoriale de prestigiu și calitatea de guest academic editor la revista *Pharmaceutics* (Q1, IF 4.421).

Ultimul capitol este dedicat prezentării proiectului de dezvoltare academică și științifică, pe care mi-l asum după obținerea abilitării. Un prim plan al acestui proiect este reprezentat de propunerea de dezvoltare didactică, prin diversificarea temelor de licență, propunerea de cursuri opționale și postuniversitare, precum și a unui program de studii masterale, toate inspirate din temele de cercetare propuse în această teză de abilitare. Un al doilea plan este cel al propunerii de dezvoltare a cercetării, pe care intenționez să îl concretizez prin (i) participarea la competiții naționale și internaționale de proiecte de cercetare, (ii) atragerea de studenți și absolvenți ai facultăților de farmacie, dar și a altor colaboratori, pentru continuarea cercetărilor privitoare la studiul fenomenului de complexare cu ciclodextrine folosind instrumente computaționale și experimentale, la repoziționarea medicamentelor – precum și a altor teme derivate din network pharmacy și network pharmacology –, la analiza sindromului apneic și BPOC folosind știința rețelelor complexe. Pentru îndeplinirea acestor obiective, voi continua colaborarea interdisciplinară cu membrii grupului ACSA din cadrul Departamentului de Calculatoare și Tehnologia Informației din Universitatea Politehnica Timișoara (www.acsa.upt.ro), împreună cu care raportează trei proiecte de cercetare (unul încheiat, două în derulare), cu profesorul Paul Bogdan de la University of Southern California, Los Angeles, cu medicul șef de lucrări dr. Ștefan Mihăicuță de la disciplina de Pneumologie a Facultății de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, cu profesorul Radu Mărculescu de la University of Texas at Austin și, desigur, cu mentorul și conducătorul meu de doctorat de la Institutul de Chimie Timișoara al Academiei Române – profesorul Ludovic Kurunczi. De asemenea, prin proiectele de cercetare în care acum sunt implicată, voi dezvolta infrastructura de cercetare, dar voi căuta și colaborări atât în cadrul Universității noastre, cât și în alte universități, pentru realizarea experimentelor din cadrul temelor de cercetare propuse în această teză de abilitare.