

## Busca de inibidores da enzima *ecto*-5'-nucleotidase por estratégias computacionais

Mariane L. Schulz<sup>1\*</sup>, Lucas G. Viviani<sup>2</sup>, Letícia, M. Peron<sup>3</sup>, Antonia T. do Amaral<sup>4</sup>.

1. Estudante de IC do Instituto de Química da Universidade de São Paulo – IQUSP; \*mariane.schulz@usp.br
2. Estudante de pós-graduação do Instituto de Química da Universidade de São Paulo – IQUSP;
3. Técnica do Depto da Química Fundamental, IQUSP, São Paulo/SP;
4. Pesquisadora do Depto da Química Fundamental, IQUSP, São Paulo/SP;

Palavras Chave: *Virtual Screening*, *ecto*-5'-nucleotidase, modelo farmacofórico.

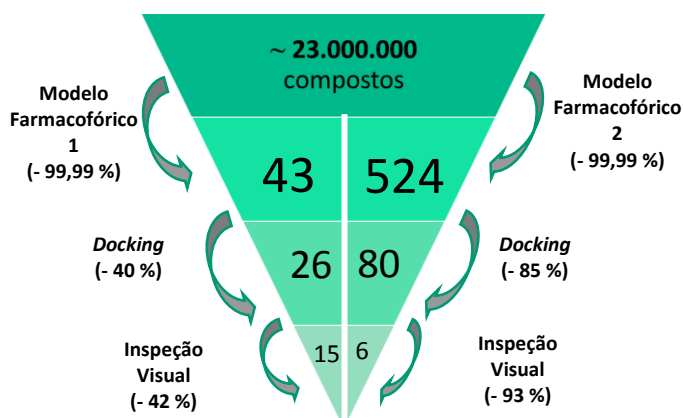
### Introdução

*Ecto*-5'-nucleotidases são enzimas ancoradas na membrana plasmática de células constituintes de vários tecidos em vertebrados. Estas enzimas catalisam a hidrólise do AMP em adenosina, desempenhando um papel regulatório fundamental em vias de sinalização purinérgica.<sup>1</sup>

Estudos mostram que e5NT está superexpressa em vários tumores humanos, sugerindo que a adenosina extracelular tenha efeito imunossupressor no microambiente tumoral.<sup>2</sup> Recentemente a estrutura 3D da e5NT humana foi determinada por cristalografia de raios-X.<sup>3</sup> Apesar de sua relevância, poucos inibidores foram descritos até o momento, portanto, objetiva-se propor modelos de busca virtual (*virtual screening*) de compostos com potencial atividade inibitória frente à *ecto*-5'-nucleotidase humana, aplicando-se uma sequência de três filtros ao banco de dados ZINC.

### Resultados e Discussão

Utilizando a estrutura 3D da proteína e5NT, na conformação fechada e co-cristalizada com o inibidor AMPCP (adenosina [( $\alpha,\beta$ )-metileno] difosfato)<sup>3</sup>, dois modelos de *Virtual Screening* (VS1 e VS2) foram gerados. A estratégia usada para busca de potenciais inibidores foi a aplicação uma sequência de filtros, representada na **Figura 1**:



**Figura 1.** Representação esquemática da sequência de filtros aplicados ao banco de dados ZINC, para o modelo de VS1 à esquerda e para o modelo de VS2 à direita gerados para a enzima e5NT.

Os Modelos Farmacofóricos foram construídos através do reconhecimento dos campos de interação molecular (*molecular interaction fields*, MIFs) no sítio ativo da enzima. Os MIFs foram gerados empregando-se as sondas DRY, O, N1 e HOH, para o reconhecimento de regiões hidrofóbicas,ceptoras e doadoras de ligação de hidrogênio, e regiões favoráveis para o posicionamento de uma molécula de água, respectivamente.

Algumas regiões de mínimo de energia (*hot spots*) dos MIFs que representam regiões de interações consideradas essenciais no reconhecimento e5NT-AMPCP, foram utilizadas para a construção dos modelos farmacofóricos. Os modelos 1 e 2 foram propostos usando o programa LIGANDSCOUT 3.1. Depois foram aplicados ao banco de dados ZINC<sup>4</sup> (23x10<sup>6</sup> moléculas, versão 2011, confôrmeros gerados pelo programa OMEGA<sup>5</sup>).

A seguir, foi feito o *docking* dos compostos selecionados utilizando o programa GOLD 5.2.2. Por fim foi feita a inspeção visual, buscando priorizar aqueles compostos que estabeleceram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo da proteína, de acordo com o previsto pelo modelo farmacofórico.

### Conclusões

Os modelos VS1 e VS2, propostos neste trabalho, selecionaram respectivamente 15 e 6 compostos do banco de dados ZINC, redução de aproximadamente 99,99% para ambos os modelos. Os compostos selecionados que estiverem disponíveis comercialmente, serão adquiridos para sua validação experimental através do ensaio enzimático.

Dentre os compostos selecionados pelo modelo VS2, um apresenta em sua estrutura, a porção adenosina do AMP. Esta constatação é relevante, pois dentre os 23 milhões de compostos do ZINC, o modelo VS2 identificou um que é estruturalmente similar ao substrato natural da e5NT humana.

### Agradecimentos

Openeye Scientific Software, Inc Santa Fe pelos programas de VS; NAP-Redoxoma; CNPq (Proc. 146716/2014-0), e FAPESP (Proc. 2014/07248-0) pelo suporte financeiro.

- [1] Zimmermann, H. et al. *Purinergic Signalling*, **2012**, 8, 437-502.
- [2] Zang, B. *Cancer Res.* **2010**, 70, 6407-6411.
- [3] Knapp, K. et al. *Structure*, **2012**, 20, 2161-2173.
- [4] Irwin, J. J. et al. *J. Chem Inf. Model.*, 45, 177-182, 2005.
- [5] Hawkins, P.C.D. et al. *J. Chem. Inf. Model.* 2010, 50, 572-584.