

50.001

ANALYSIS OF A DOCKING STRUCTURE OF HIV-1 REVERSE TRANSCRIPTASE - DOLABELLANE DITERPENE DERIVATIVE COMPLEX: THEORETICAL STUDIES OF THE ACTIVE SITE REGION. ¹Souza, A. M. T.; ²Albuquerque, M. G.; ¹Castro, H. C.; ³Barbosa, J. P.; ¹Pereira, R. C.; ¹Abrantes, J. L.; ⁴Santos, C. C. C.; ⁴Rebello, M. A.; ¹Frugulhetti, I. C. P. P.; ¹Teixeira, V. L.; ¹¹Rodrigues, C. R.; ¹IB-UFF; ²IQ-UFRJ; ³IQ-UFF; ⁴Microbiologia UFRJ; ⁵Faculdade de Farmácia UFRJ

Objetivo:

The discovery and characterization of new inhibitors with low toxic effects to the host or new inhibitory mechanism(s) against HIV replication are still a goal in the HIV-treatment. Dolabellane diterpene (Dd), present in the crude extract of *Dictyota pfaffii* from Atol das Rocas, Brazil, showed 80% of inhibition of the HIV-1 reverse transcriptase (RT) activity, a key target for anti-AIDS chemotherapy, at a concentration of 40 μ M in an *in vitro* assay. Considering that all non-nucleoside RT inhibitors (NNRTIs) available are structurally and chemically dissimilar compounds that bind at a common site in HIV-1 RT, the present work aims to dock Dd into RT and find out their binding pattern using Hyperchem 7.0 program.

Métodos e Resultados:

We used as a reference structure the crystal complex between RT and TIBO (Tb), a NNRTI, to validate the study. Dd was overlapped with Tb in three different ways: considering spatial arrangement between Dd and Tb, electronic similarities, and the hydrogen bond interaction (responsible for the stabilization of the inhibitor in the active site) between Tb and Lys101. The superimposed ligand was optimized inside the active site after Tb was deleted and all atoms from the protein were fixed. Then, three more optimizations were performed to relax the protein side chains. Dd showed a butterfly-like conformation as Tb. In the crystallized form, Tb showed a potential hydrogen bond interaction with Lys101 (2.7Å), that increased when optimized (3.0Å). Dd overlapped according to the hydrogen bond way showed the same hydrogen bond interaction with Lys101 (2.89Å) and the smallest interaction energy. In addition, in order to verify the dynamic behavior of Db, molecular dynamics simulation (MDS) studies are in progress.

Conclusões:

Dolabellane diterpene is able to fit into the active site of TR, having a similar binding mode as TIBO, therefore it could be classified *a priori* as a NNRT inhibitor.

50.002

MODELO MATEMÁTICO PARA CRESCIMENTO DE JUNDIÁ, *RHAMDIA QUELEN* (HEPTAPTERIDAE). ¹Benaduce, A. P.; ¹Kochhann, D.; ²Mistro, D. C.; ²Rodrigues, L. A. D.; ¹Baldisserotto, B. ¹Fisiologia UFSM; ²Matemática UFSM

Objetivo:

Desenvolver um modelo matemático demonstrando a relação entre faixa etária e crescimento em peso do jundiá, *Rhamdia quelen*, diferenciando machos e fêmeas, a partir de uma equação à diferenças não-linear.

Métodos e Resultados:

A característica principal da equação à diferenças não linear é que o tempo é considerado discreto na sua formulação. Neste caso, o peso do jundiá no tempo $t + 1$, denotado por P_{t+1} , é relacionado ao seu peso no tempo t , P_t . Isto conduz a uma descrição da forma $P_{t+1} = f(P_t)$, onde $f(P_t)$ é uma função não linear de P_t . Para fazer uma escolha adequada da função $f(P_t)$ consideramos que o crescimento do peixe é auto-regulado. Desta forma, a taxa de crescimento deve diminuir, aproximando-se de zero à medida que o peso do peixe aumenta. Isto garante que o peixe atinja um tamanho máximo. O crescimento em peso do peixe será descrito, então, pelo modelo de Beverton-Holt $P_{t+1} = (r P_t) / (1 + \alpha P_t)$, onde $r > 0$ é a taxa máxima de crescimento e $\alpha > 0$ é uma constante relacionada à inibição do crescimento. Para determinar o valor dos parâmetros r e α , utilizamos os dados obtidos na literatura (Ciên. e Nat. 5:103, 1983) para o peso médio máximo de machos (1,353kg) e fêmeas (3,018kg). Obtivemos para os machos $r=1,53$ e $\alpha = 0,39$ e para as fêmeas $r= 1,45$ e $\alpha = 0,15$. Com esses coeficientes, determinamos a curva de crescimento em

peso do jundiá utilizando a equação Beverton-Holt e construímos um programa interativo no "Software" Mathematica, versão 4.0 (1999).

Conclusões:

Em ambiente natural, fêmeas de jundiá alcançam o peso máximo aproximadamente aos 18 anos e os machos aproximadamente aos 12 anos.

50.003

IDENTIFICATION OF CANDIDATE SNPS FROM MICRO-ARRAYS DATABASE IN GENETIC PANELS AFFECTED BY HUMAN PAPILLOMAVIRUS. ¹Camarotti-Lima, A. C.; ¹Santana, N. A.; ¹Andrade, R. S.; ¹Oliveira, J. R. M.; ²Lima Filho, J. L. ¹Biologia Molecular UFPE; ²Bioquímica UFPE

Objetivo:

We have been able to identify non previously reported Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), based on micro-arrays database of genes down/up regulated by HPV infection, such as the small-proline protein (SPRR) 2A and 2B, β -defensine 1 (DEFB1) and Interferon- α (IFI27).

Métodos e Resultados:

Initially we searched through microarray database of HPV studies in order to identify potential genes that were down regulated or upregulated after HPV infection. Then, we tried to identify candidate SNPs from ESTs database (NCBI, Goldenpath, etc) of these genes involved with the viral infection/progression. After that we built a panel of new candidate SNPs that are potential targets of physiopathology and drug action in HPV. Right now we are on the verge of validating our findings in micro-arrays of human genes.

The preliminary analyses identified potential new SNPs: 10 for SPRR2A, 14 for SPRR2B, 19 for DEFB1 and 33 for IFI27.

Conclusões:

Those results demonstrated the importance of these genes in studies of single nucleotide polymorphisms that could be associated with HPV infection/progression.

50.004

APLICAÇÃO DE MÉTODOS COMPUTACIONAIS DE DOCKING MOLECULAR NO ESTUDO DE QUIMIOTERÁPICOS CITOTÓXICOS. Diniz-Filho, J.; ²França-Lima, P. G. Fisiologia e Farmacologia UFC

Objetivo: Um dos maiores desafios dos métodos computacionais é o de prever, de forma acurada, a afinidade da interação receptor-ligante e suas conseqüências funcionais, em estruturas moleculares já conhecidas ou ainda por estudar. Um estudo exploratório de extratos de plantas e de animais marinhos vem sendo feito pelo nosso grupo de pesquisa, evidenciando substâncias com ação citotóxica. É de interesse que, na medida em que os princípios ativos forem sendo identificados, haja um estudo subsequente das propriedades moleculares, tendo em vista a sua interação com o sítio ativo. No presente estudo, foram feitos testes de afinidade de interação molecular com uso de ferramenta computacional específica para docking molecular.

Métodos e Resultados: Foram usados recursos implementados na versão 3 do Autodock (Scripps). Nesta ferramenta, um procedimento é utilizado para calcular previamente os potenciais de afinidade atômicos para cada átomo no ligante. Em seguida, um outro procedimento composto de busca completa o processo de simulação do reconhecimento molecular. Nos modelos testados, o processo de predição mostrou-se mais adequado para a interação em complexos proteína-ligante, em virtude da menor variedade de parâmetros atômicos, do que nos complexos proteína-DNA-ligante. Por outro lado, para o caso da interação topoisomerase I-DNA-topotecan, apesar da necessidade de um ajuste manual de cargas, complementar aos recursos inerentes à ferramenta, houve uma boa aproximação em relação aos resultados experimentais cristalográficos.

Conclusões:

Para esta etapa do projeto, a ferramenta utilizada nestes experimentos se apresenta como uma alternativa adequada para predição do processo de interação molecular. Testes adicionais são necessários para um melhor conhecimento dos seus limites e potencialidades.

50.005

ANÁLISE COMPUTACIONAL DO CAMPO DE VELOCIDADE E DISTRIBUIÇÃO DA TENSÃO DE CISALHAMENTO EM FÍSTULA ARTERIOVENOSA. ¹Bessa, K. L.; ¹Ortiz, J. P.; ²Galego, S.J.; ¹Engenharia Mecânica e de Produção USP; ²Cirurgia Experimental Faculdade de Medicina do ABC

Objetivo: Caracterizar matematicamente o campo de velocidade e o campo de tensão de cisalhamento do escoamento sanguíneo em fístulas arteriovenosas (FAV), considerando as seguintes técnicas cirúrgicas: FAV término-lateral (FAVTL) e FAV látero-lateral modificada (FAVLLM).

Métodos e Resultados: Métodos e Resultados: Os resultados de fluxos volumétricos e diâmetros da artéria e veia femoral obtidos *in vivo*, em cães submetidos à cirurgia para implantação das FAV (Artificial Organs 24, 235:40, 2000), serviram como condições de contorno para alimentar o modelo numérico. O fluxo volumétrico na artéria proximal à fístula foi de 400 ml/min e na parte distal a mesma foi de 120 ml/min. O diâmetro arterial e venoso foram respectivamente 4 mm e 6 mm e o diâmetro da anastomose foi 6 mm. A partir destes valores o domínio computacional foi gerado. Variou-se o ângulo da anastomose de 15° até 75° para as FAVTL e FAVLLM. A geometria e o processo de discretização da fístula foram realizados no software Gambit 2.1.6 e, em seguida, a malha foi exportada para o software Fluent 5.5. As condições de contorno inseridas no Fluent foram: densidade, viscosidade do fluido e as velocidades de entrada na fístula, onde as equações da conservação de massa e da quantidade de movimento que regem o escoamento são solucionadas. As paredes foram consideradas como sendo tubos rígidos e o escoamento permanente. Percebe-se que há formações de vórtices e separações de escoamento nas regiões de variação brusca de geometria e na região da anastomose, independente do tipo de fístula e do ângulo da anastomose, sendo assim, essas regiões são propícias ao entupimento da FAV. Na parede da FAVTL, o ângulo de anastomose de 15° e 75° apresentam tensões de cisalhamento de 90 Pa e 16 Pa, respectivamente, enquanto na FAVLLM os valores correspondentes àqueles ângulos são 25 Pa e 5 Pa.

Conclusões:

A tensão de cisalhamento é fortemente influenciada pelo ângulo de anastomose. Quanto menor o ângulo de anastomose, maior é o valor da tensão de cisalhamento e conseqüentemente maior é a solicitação mecânica sobre as células endoteliais, implicando no entupimento da FAV. Os valores de tensões de cisalhamentos são menores na FAVLLM. Sendo assim, a FAVLLM é a técnica cirúrgica adequada para ser realizada nos pacientes de hemodiálise.

50.006

CARACTERIZAÇÃO DA INTERAÇÃO DO PEPTÍDEO RFMNYWEGL COM A PROTEÍNA MDM2 ATRAVÉS DE SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR. ¹Hozumi, C. G.; Limaverde, G. S. C. S. ^{**}; Ruback, E. ^{**}; Batista, P. R. ^{**}; Gomes, D. E. B. ^{**}; Pascutti, P. G. IBCCF-UFRJ

Objetivo: A mdm2 é uma oncoproteína que regula de forma negativa a proteína p53, a qual está relacionada com a supressão de de tumores. O complexo em estudo é formado pela proteína mdm2 e o peptídeo RFMNYWEGL, com características similares a p53, sugerindo um possível bloqueio da mdm2. O objetivo desse trabalho foi realizar análises preliminares para verificar o comportamento do peptídeo junto a mdm2. Por Dinâmica Molecular (DM) estudar essa associação e elaborar hipóteses sobre o processo de inibição desse peptídeo.

Métodos e Resultados: O complexo peptídeo-proteína (1T4F - Protein Data Bank) teve sua carga (+3) neutralizada pela adição de três íons Cl⁻ foi inserido em uma caixa cúbica com moléculas de água em condições periódicas de contorno com 27.939 átomos. Otimizações prévias à DM foram feitas pelos métodos *Steepest Descent* e Gradientes Conjugados, usando o programa GROMACS. Em seguida foram realizadas simulações de 0.5 ns de DM com os átomos das cadeias fixos para permitir polarização das camadas de hidratação, seguidos de mais 0.5 ns de DM para relaxação do sistema soluto-solvente e termalização, finalizando com mais uma DM por 2 ns para aquisição de dados. O cálculo de RMSD mostrou estabilidade do complexo em 2ns. Análises individuais do peptídeo e da mdm2 foram feitas e a maior flexibilidade foi no peptídeo. As grandes flutuações do complexo foram no V88 e W94. As áreas de contato caracterizaram-se por apresentar 4 regiões distintas: T27-M40; Y45-V53; S68-Y78 e R89-G96.

Conclusões:

Sendo esse modelo uma chave para a compreensão da interação do peptídeo similar à p53 com a mdm2, através da DM podemos descrever e avaliar o funcionamento de um possível inibidor da proteína oncogênica.

50.007

THE VELOCITY (V) OF A RADIOACTIVE BOLUS (RB) IN THE OESOPHAGUS (O) EVALUATED BY MEANS OF AN IMAGE SEGMENTATION ALGORITHM. ¹Miquelin, C. A.; ²Braga, F. J. H. N.; ³Dantas, R. O.; ³Oliveira, R. B. D.* ¹Física, CEFET-PR; ²Medicina Nuclear Hospital São Lucas Ribeirão Preto; ³Clínica Médica HC-FMRP-USP

Objetivo:

Classical scintigraphic evaluation of a RB through O is based on ROIs and time/activity curves, which only gives information about the total time required for it to cross the organ. Instantaneous parameters can be obtained if the exact position (centroid, C) of RB is known. For that, one needs to know the co-ordinates of the centre of mass of the bolus radioactivity distribution.

From this, one can obtain V at each time. It is interesting to know this new parameter, to try to determine if the anatomical differences among the 3 thirds of the O have a functional correspondence or not.

Métodos e Resultados:

We have studied 8 normal volunteers (4 males, 4 females, 33-68 yo). Each volunteer swallowed (unique swallowing) 40 MBq of ^{99m}Tc-phytate in 10 ml water. Eighty frames (0.3 sec) were acquired in a scintillation camera. External marks were used to separate the pharynx from O. Images were transformed into bitmap by means of a Sophy Medical processing module and analysed by means of the algorithm, which determines the co-ordinates of C for each frame and instant V of RB throughout O. Different Vs were found in typical evaluations. Curves representing the different positions of the bolus C and the correspondent different Vs were obtained. Horizontal and vertical position of C of RB were obtained during swallowing. Different velocities of the bolus were detected during the pharyngeal phase, proximal O phase, mid O phase and distal O phase.

Conclusões:

Different velocities of the radioactive bolus were found in the different thirds of the oesophagus in all volunteers, the proximal third being the fastest and the distal one the slowest. The graphs below show the results obtained from two of the volunteers.

50.008

LECTINS FROM SNAKE VENOMS: A THEORETICAL STUDY. ¹Abreu, P. A.; ¹Almeida, H. C. C. C.; ³Albuquerque M.G.; ⁴Rodrigues, C. R. ¹Biologia Celular e Molecular UFF; ³Farmácia HUCFF-UFRJ; ⁴Farmácia, UFRJ

Objetivo:

Snake venoms lectins (SVLs) are calcium-dependent-carbohydrates-binding proteins and members of C-type Lectin (C-tL) family, which consists of similar proteins presenting different biological activities. Herein we constructed the theoretical models for lectins from *Bothrops*, *Lachesis*, *Bitis*, *Trimeresurus*, *Bungarus*, venoms, using the *Crotalus atrox* lectin (Cal) as template, and compared them with C-tL family members and plant lectins.

Métodos e Resultados:

The SVLs theoretical models (RMSD=0,07-0,38Å) are clearly different to others C-tL family members (RMSD=0,88-9,94Å). This is probably due to the rotation of the 70's loop (39Å) of the SVLs subunits that leads to a different spatial arrangement. Interestingly, the carbohydrate (Gln96; Asn119; Asp98, 120; Glu104, 108) and calcium recognition domains (Asp98, Glu104, Glu108 and Asp120) (CRD) are clearly noticed in all SVLs models. The electrostatic potential map analysis points to an extensive negative patch surrounding the CRD that probably orientates binding to cells such as erythrocytes. Interestingly the construction of a decameric form, similar to Cal, is not feasible for SVLs models due to the replacement of aminoacids residues directly involved in oligomerization (*i.e.* Leu5 and residues 88-89). The molecular phylogenetic tree including SVLs, C-tL family members and plant lectins revealed two groups composed by true lectins, subdivided into animals and plant lectins, and lectin-like proteins, also separated in accord to their specific biological activities.

Conclusões: Our study suggested that the structural features responsible for the different biological activities of the SVLs and the C-type Lectin family members can be already detected at the primary structure level, and are not entirely resulting from a different specific folding. These studies are expected to contribute to the understanding of the structure-activity relationship of SVLs and of the C-type lectin family.

50.009

CaSPREDICTOR: A NEW COMPUTER-BASED TOOL FOR CASPASE SUBSTRATE PREDICTION ¹ Belizario, J. E.; ²Garay, M.; ³Alves, J.; ⁴ Occhiucci, J.; ¹ Farmacologia - ICB I, USP; ² Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas; ^{3, 4} Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas

Objetivo:

Screening and validation of putative caspase substrates using CaSpredictor software.

Métodos e Resultados:

We have chosen an arbitrary CASP score = 0.57, where the sensitivity is 60% and specificity is 97% as a threshold score for prediction. The program detected potential cleavage sites in the primary sequences of 1644 proteins in a dataset containing 9986 protein entries. Most of these putative caspase substrates are cytoplasmatic proteins (38%) and function in the signalling transduction pathways (69%). Another set of plasma membrane proteins (26%) can be included in this group because they act as transmembrane receptors. However, typical apoptosis-related proteins cleaved by caspase, including DNA repair and structural proteins are poorly represented (Fig. 6). In the list presented are the proteins: ATP-binding cassette-1 (ABC-1), protein kinase akt-3, atonal protein homolog 1, PDZ-RhoGEF, atrophin- 1 interactin protein 1 and ADAM 17. We analyzed the interaction of putative substrates (score >0.57) via C14 caspase domain and found that the 11.5% (95/836) shared potential domain of interactions. Using the BLAST option at the Apoptosis Database we also detected a apoptosis related domain in 40% (38/95) of putative substrates.

Conclusões: The caspase substrate database generated by CaSPredictor is available at site (<http://icb.usp.br/~farmaco/Jose>). The relevant substrates might provide new insights link caspase cleavage to important apoptotic and non-apoptotic biological processes.

50.010

PSD1: CONSTRUCTION AND CHARACTERIZATION OF DEFENSIN MUTANTS. ¹Sathler P. C.; ²Kurtenbach, E.; ¹Almeida, H. C. C.; ³Rodrigues, C. R.; ¹Biologia Celular e Molecular, UFF; ²Bioquímica UFRJ; ³Faculdade de Farmácia, UFRJ

Objetivo: Purpose: Defensins are anti-microbial proteins widely distributed in plants. Psd1 is a defensin (46 aa) from *Pisum sativum*. Recent results showed that Psd1 inhibit phytopathogenic fungi growth. Herein, our goal is to use molecular modeling as a tool to create theoretical models for Psd1 mutants, in order to observe the Psd1 mutant stability for future use in practical experiments.

Métodos e Resultados: Materials and Results: Psd1 defensin crystal structure was obtained in Protein Data Bank and mutated using the Deepview/ Swiss-Pdb Viewer Version 3.7 program. The mutations were based on the predicted Psd1 interaction regions with fungus membrane. All the positions (G12, A18, H36 and W38) were replaced by different amino acids in accord to their polarity and hydrophobic parameters (A, G, W, Y, E, D and R), generating 24 mutants. Then, Psd1 mutants were minimized and analyzed by using root mean square (RMS), electrostatic potential map and volume parameters. Our analysis showed that all Psd1 theoretical mutants conserved the overall folding structure. Despite the conservation, a small variation on the RMS values was noticed for W38E and G12D (RMS = 0,06Å) probably by the 10's loop deviation due to the aminoacid replacement. The electrostatic potential map analysis for all the mutants showed that, compared to Psd1 wild type, significant modifications occurred mainly when the replacement involved acid or basic residues. The volume analysis showed an increase of this parameter on several mutants (G12R, A18R, H36W and W38Y) while a decrease is noticed only for W38A. These mutations led to significant structural changes that will probably alter its biological activities and help in the understanding of the structure-activity relationship.

Conclusões: Conclusion: The mutations G12R, A18R, H36W, W38E and W38A that led to important modifications on RMS, electrostatic potential and molecular structure volume were chosen to start the experimental structure-activity relationship study. Support: FAPERJ/CNPq/UFF.