



latório: 16/06/2021

# RELATÓRIO EXECUTIVO DO PROJETO

|                  |   |                      |                               |                     |            |
|------------------|---|----------------------|-------------------------------|---------------------|------------|
| Nº               | de atividade antiviral de Peptídeos Intragênicos Antimicrobianos (IAPs) |                      |                               |                     |            |
|                  | VATEC, UnB  |                      |                               |                     |            |
| Executores       | UnB   | Instrumento jurídico | TOA nº 00193-00000521/2020-62 | Nº SEI              |            |
| Demandante(s)    | FAPDF   | Vigência do projeto  | 12 meses                      |                     |            |
| Valor do projeto | R\$10.000,00  | Data assinatura      | 09/06/2020                    | Data fim (previsão) | 05/08/2021 |

## RESUMO DO PROJETO

|        |   |
|--------|---|
| Objeto | prospecção e avaliação do potencial efeito antiviral de Hs IAPs sintetizados no grupo de pesquisa para SARS-CoV-2, além de outros vírus, buscando moléculas de efeito antiviral amplo e de baixa citotoxicidade, as quais servem de molde para o desenvolvimento de alternativas no combate a prováveis surtos futuros causados por vírus emergentes. |
| Metas  | M1- Prospecção in silico de potenciais IAPs do proteoma humano (Hs IAPs)<br>M2- Obtenção dos Hs IAPs sintéticos<br>M3- Avaliação de citotoxicidade de Hs IAPs<br>M4- Avaliação do efeito inibitório de Hs IAPs contra SARS-CoV-2  |

## Indicadores de Desempenho (KPIs)

|                  | NOK | ATENÇÃO | OK |
|------------------|-----|---------|----|
| Orçamento        |     | X       |    |
| Cronograma       |     |         | X  |
| Governança       | X   |         |    |
| Escopo           |     | X       |    |
| Time / pessoas   |     |         | X  |
| Gestão de riscos |     | X       |    |
| Comunicação      |     |         |    |

| Principais etapas programadas   | Data Prevista      | Estágio atual  | Status  |
|---|--------------------|--|---|
| Colocar etapas previstas para cumprimento do objeto (entregas parciais do projeto)  | XX/XX/XXXX         | Colocar observação sobre a situação atual de andamento da etapa, sobre o que foi já foi feito para cumprimento dela, as dificuldades encontradas.  | Colocar o status atual em relação ao andamento da etapa |
|   |                    |  | NÃO INICIADO/ EM ANDAMENTO/ CONCLUÍDO                   |
| Etapa 1 - prospecção dos potenciais IAPs utilizando o software Kamal  | Término 09/09/2020 | O proteoma modelo de Homo sapiens foi obtido de plataformas online e, utilizando regras específicas para os amino ácidos das faces hidrofóbica e hidrofílica, foram prospectados em torno de 2000 fragmentos de proteínas humanas com potencial atividade antiviral. Não foram encontradas dificuldades.                                   | Concluído   |
| Etapa 2 - Síntese química de potenciais IAPs e sua purificação por cromatografia líquida de fase reversa e análise por Espectrometria de Massa. | Término 09/12/2020 | 6 potenciais IAPs foram sintetizados quimicamente utilizando a estratégia Fmoc/t-Bu. Estes foram, junto com outras 6 moléculas já prospectadas previamente no LSAB para outros projetos, purificados por cromatografia líquida de fase reversa e analisados por espectrometria de massa do tipo MALDI. Não foram encontradas dificuldades. | Concluído   |
| Etapa 3 - Avaliação da citotoxicidade de Hs IAPs  | Término 09/06/2021 | Foram adquiridas células do tipo Vero E6, as mesmas que serão utilizadas para ensaios de inibição de infecção viral.   | Em andamento  |
| Etapa 4 - Avaliação do efeito inibitório de Hs IAPs contra SARS-CoV-2   | Término 09/06/2021 | Foram enviados ~5mg de cada um dos 12 peptídeos que serão testados como potenciais inibidores de infecção de células Vero E6 por SARS-CoV-2 <i>in vitro</i> . Os mesmos peptídeos serão enviados a outro colaborador que fará os testes <i>in vitro</i> usando metodologia similar que avalia outros parâmetros.                           | Em andamento  |

| Pontos de atenção   | Nível risco         | Resolução / Providência  | Responsável  |
|---|---------------------|--|--|
| Colocar pontos de atenção, principalmente os relacionados aos indicadores de desempenho | FORTE/ MÉDIO/ FRACO |  |  |
| Dificuldades metodológicas inerentes a testes <i>in vitro</i> utilizando células.       | MÉDIO               | Testes <i>in vitro</i> utilizando células são sempre desafiadores pela possibilidade de contaminação por microrganismos. Ambos os grupos colaboradores responsáveis por essa tarefa são experientes e, mesmo que surjam dificuldades, possuem experiência suficiente para lidar com contratempos. Assim, consideramos que o risco de não atingirmos os resultados de maneira satisfatória é médio. | Prof. Dr. José Roberto Leite / Faculdade de Medicina, UnB e Prof. João Gonçalves, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa. |

## PRINCIPAIS AÇÕES REALIZADAS (PERÍODO ANTERIOR)

Mês/Ano mai/21

As ações realizadas neste período foram descritas no item Principais Etapas Programadas. Somente para reforço, todas as etapas referentes a identificação *in silico* de potenciais IAPs estão concluídas, assim como a síntese, purificação e avaliação espectrométrica de 6 moléculas. Não foram encontradas dificuldades, pois estas metodologias são executadas de rotina em nosso grupo de pesquisa. Os grupos responsáveis pela realização de testes de inibição de infecção viral *in vitro* reportaram dificuldades na execução dos experimentos, principalmente na padronização dos ensaios. Assim, embora tenhamos dados preliminares demonstrando que algumas moléculas possuem potencial na atuação como inibidores de SARS-CoV-2 em células Vero-E6, ainda não conseguimos os dados definitivos. Desta maneira, foi pedida a prorrogação do projeto por mais 6 meses.

## PRINCIPAIS AÇÕES PLANEJADAS (PRÓXIMO PERÍODO)

Mês/Ano jul/21

As amostras já se encontram com os colaboradores que executarão os testes *in vitro*. Os resultados preliminares indicam que algumas das moléculas estudadas tem potencial na inibição da infecção de células Vero-E6 por SARS-CoV-2. Uma rodada de testes já foi executada, porém os resultados não são finais devido a problemas no controle do experimento. Os problemas estão sendo verificados e os testes estão sendo refeitos. Esperamos ter resultados definitivos no próximo mês.

#### INFORMAÇÕES RELEVANTES PARA STAKEHOLDERS

A etapa de síntese e purificação de moléculas estava prevista para terminar em dezembro de 2020, entretanto, foi concluída antes do prazo. Foi feito um primeiro ensaio em uma concentração fixa de 10  $\mu$ M dos 12 peptídeos enviados (6 exclusivos deste projeto e 6 dos bancos de dados do grupo de pesquisa). Cinco das moléculas testadas inibiram 100% da infectividade viral, porém apresentaram considerável citotoxicidade nessa concentração. Contudo, é necessário avaliar a janela terapêutica destes para se ter uma ideia real de sua aplicabilidade. Outras 6 moléculas inibiram a infectividade viral em  $16 \pm 10\%$ , com viabilidade celular de  $82 \pm 31\%$ . Dentre todos os peptídeos submetidos a esta avaliação inicial, 4 foram escolhidos para a elaboração de uma curva dose-resposta visando determinar a concentração inibitória e a toxicidade, sendo esta a etapa atual de desenvolvimento do projeto.