14/07/2021

RELATÓRIO EXECUTIVO DO PROJETO

Nome	ade antiviral de Peptídeos Intragênicos Antimicrobianos (IAPs)				
Pesquisador	JnB				
Edital		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)
	M2- Obtenção dos Hs IAPs sintéticos
	M3- Avaliação de citotoxicidade de Hs IAPs
	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 - Sintese 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 estratégica 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 espectrometira 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 *in vitro* . Os mesmos peptídeos serão enviados a outro colaborador que fará os testes *in vitro* 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 *in vitro* utilizando células.	MÉDIO	Testes *in vitro* 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: jun/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 µM dos 12 peptídeos enviados (6 exclusivos deste projeto e 6 dos bancos de dados do grupo de pesquisa). Cinco das moléculas testadas inibiriam 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 outras moléculas inibiram a infectividade viral em 16 ± 10%, com viabilidade celular de 82 ± 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.