



Data do relatório: 29/11/2021

## RELATÓRIO EXECUTIVO DO PROJETO

Nome do projeto	Verificação de atividade antiviral de Peptídeos Intragênicos Antimicrobianos (IAPs)				
Participa(s)	FAPDF, FINATEC, UnB				
Executor(es)	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)	prorrogado p 06/02/2022

## 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 <i>in silico</i> 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
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 06/02/2022	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 06/02/2022	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 foram enviados a outro colaborador (Prof. Dr. Lúcio Freitas Junior, ICB, USP e pós-doutora Dra. Carolina Borsoi Moraes) que farão os testes <i>in vitro</i> usando metodologia HCT.	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 microorganismos. Ambos os grupos colaboradores responsáveis por essa tarefa são experientes e, mesmo que surjam dificuldades, possuem experiência suficiente para lidar com contratemplos. 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. Prof. Dr. Lucio Freita Junior, ICB, USP.

## PRINCIPAIS AÇÕES REALIZADAS (PERÍODO ANTERIOR)

Mês/Ano

out/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. Um dos colaboradores retornou os dados de determinação de EC50 e CC50 para 4 moléculas (ICB-USP). Obtivemos dados que demonstram que um dos peptídeos é promissor por apresentar potência significativa como inibidor de SARS-CoV-2 e toxicidade relativamente baixa.

#### PRINCIPAIS AÇÕES PLANEJADAS (PRÓXIMO PERÍODO)

Mês/Ano

nov/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. Foram determinados o CC50 e EC50 para 4 moléculas e uma delas teve resultados promissores. Espera-se, para o próximo período, obter dados em triplicata, assim, com maior confiabilidade.

#### 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, no ICB-USP, 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 outras 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. Os dados ainda não são finais, mas um dos peptídeos demonstrou resultados interessantes como inibidor de SARS-CoV-2.