



Data do relatório: 20/03/2022

# RELATÓRIO EXECUTIVO DO PROJETO

Nome do projeto	Prospecção de moléculas inibitórias das proteases quimiotripsina-like protease (Mpro) and papain-like protease (PLpro), com atividade antiviral contra o Sars-Cov2			
Partícipe(s)	FAPDF, FINATEC, UnB			
Coordenador	IZABELA MARQUES DOURADO BASTOS	Instrumento jurídico	TOA nº 00193-00000529/2020-29	Nº SEI
Demandante(s)	FAPDF	Vigência do projeto	12 Meses	
Valor do projeto	R\$ 390.000,00	Data assinatura	31/07/2020	(previsão) 10/09/2022

## RESUMO DO PROJETO

Objeto	Expressar e purificar as proteases quimiotripsinalike protese (Mpro) and papain-like protease (PLpro), bem como realizar a prospecção de moléculas inibitórias (naturais e/ou sintéticas) para as referidas proteases e avaliar a atividade antiviral dos compostos com melhores atividades inibitórias.
Metas	M1- Produção das enzimas recombinantes M2- Ensaios de inibição enzimática e caracterização dos inibidores para os ensaios M3- Ensaios antivirais

## Indicadores de Desempenho (KPIs)

	NOK	ATENÇÃO	OK
Orçamento			
Cronograma		X	
Governança			X
Escopo			X
Riscos			X
Comunicação			X

Principais etapas programadas	Data Prevista	Estágio atual	Status
Etapa 1: síntese de plasmídeos contendo o gene Mpro ou PLPro (Meta 1).	10/11/20	Os plasmídeos foram entregues no dia 22/01/2021, porém, após os primeiros teste, constatamos que um deles apresentou erro na síntese. A empresa já enviou o plasmídeo mas ainda não recebemos no laboratório.	Concluído
Etapa 2: obtenção de moléculas (óleos essenciais, moléculas oriundas da quimioteca do Museu Nacional de História Natural de Paris e moléculas resultantes de triagem virtual) para avaliar o potencial inibitório das protease PLPro e Mpro. (Metas 2 e 3)	30/01/21	Óleos essenciais a serem adquiridos já foram escolhidos, bem como os inibidores (controle) das duas proteases. Os substratos das proteases Mpro e PL-pro também já foram selecionados.	Concluído

Etapa 3: expressão e purificação das enzimas recombinantes (Meta 1)	20/07/21	essa etapa foi iniciada, mas devido ao problema com um plasmídeo, somente o estudo da Mpro está em andamento. Estamos com dificuldades técnicas de obter a proteína recombinante da Mpro, por isso estamos padronizando a expressão, o que está atrasando o início da etapa de purificação.	Concluído
Etapa 4. triagem dos compostos fornecidos pela biblioteca de compostos do MNHN e óleos essenciais pelos ensaios de inibição enzimática (Meta 2). Triagem computacional (virtual screening) das proteases com base nessa referida biblioteca.	10/05/22	Triagem experimental será iniciada após a etapa 3. Etapa de triagem computacional já iniciada: 1) catalogação das estruturas químicas dos compostos da biblioteca do MNHN; 2) preparação dos compostos, para realização dos cálculos de docking molecular 3) análise e seleção das estruturas 3D e conformações das enzimas Mpro e PLpro disponíveis no Protein Data Bank.	em desenvolvimento
Etapa 5. Determinar o valor da concentração capaz de inibir 50% da atividade enzimática (IC50) dos compostos mais promissores provenientes da etapa de triagem; (Meta 2)	10/06/21	Triagem experimental será iniciada após a etapa 3.	em desenvolvimento
Etapa 6: Realizar a caracterização bioquímica dos melhores inibidores (Meta 2)	01/07/22	será iniciada após a etapa 5	Não iniciado
Etapa 7: - Realizar ensaios antivirais dos compostos com melhores atividade inibitórias (Meta 3).	01/08/22	será iniciada após a etapa 6	Não iniciado

Pontos de atenção	Nível risco	Resolução / Providência	Responsável

**PRINCIPAIS AÇÕES REALIZADAS (PERÍODO ANTERIOR)**

fev/22

Após realizar a triagem virtual da Mpro (com as 5 estruturas 3D de Mpro selecionadas previamente) contra a biblioteca de compostos do Museu de Paris, realizamos as análises de inspeção visual baseada em Química Medicinal: score de docking dos top 10% melhores compostos; interação com a díade catalítica; comparação com estruturas 3D de complexos (Mpro-inibidor), análise de similaridade estrutural dos compostos com inibidores conhecidos; agrupamento dos compostos por similaridade estrutural (aumentar a diversidade estrutural dos compostos selecionados). Ao final das análises, priorizamos 31 compostos para serem importados de Paris para o Brasil para realizar os ensaios experimentais de inibição da Mpro. As condições de expressão, purificação, teste enzimático e teste de inibição da PLPro foram otimizadas e em relação à MPro está em fase de otimização

## PRINCIPAIS AÇÕES PLANEJADAS (PRÓXIMO PERÍODO)

mar/22

As próximas etapas serão: 1) finalização dos dockings de ativos e inativos da Mpro contra todas as 5 estrutura e cálculo das métricas de validação do docking; 2) triagem virtual da biblioteca ChemDiv contra Plpro; 3) otimização das condições de purificação, atividade e inibição da MPro.

## INFORMAÇÕES RELEVANTES PARA STAKEHOLDERS

